

THÈSE

présentée à

LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY
UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

par

Louis FERNANDES

**Étude chimique de nouveaux alcaloïdes et de
nouvelles cétone stéroïdiques isolées du
Paravallaris microphylla Pitard (Apocynacées).**

Soutenue le 27 Février 1970, devant la Commission d'Examen :

MM. S. DAVID

} Président

M.-M. JANOT

M. FETIZON

P. POTIER

} Examineurs

T H E S E
présentée à

LA FACULTE DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITE DE PARIS

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

(Mention Sciences)

par

LOUIS F E R N A N D E S

ETUDE CHIMIQUE DE NOUVEAUX ALCALOÏDES ET DE
NOUVELLES CÉTONES STÉROÏDIQUES ISOLES DU
PARAVALLARIS MICROPHYLLA PITARD (APOCYNACEES)

Soutenue le 27 Février 1970, devant la Commission
d'Examen :

MM. S. DAVID

Président

M.-M. JANOT

M. FETIZON

P. POTIER

Examineurs



A MONSIEUR S. D A V I D

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

qui m'a fait l'honneur
de présider le jury de
cette thèse.

A MONSIEUR MAURICE-MARIE J A N O T

Membre de l'Institut

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

A MONSIEUR MARCEL F E T I Z O N

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

A MONSIEUR PIERRE P O T I E R

Maître de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui ont accepté de
juger ce travail.

En hommage de respectueuse gratitude.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude :

A Monsieur MAURICE-MARIE J A N O T

Membre de l'Institut
Membre de l'Académie Nationale de Médecine
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris
Directeur de l'Institut de Chimie des Substances
Naturelles du Centre National de la Recherche
Scientifique

qui m'a fait l'honneur
de m'accueillir dans son
laboratoire ;

A Monsieur JEAN L E M E N

Professeur à la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie de Reims

pour l'intérêt qu'il a
porté à mon travail ;

A Monsieur PIERRE P O T I E R

Maître de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui m'a confié le sujet de
cette thèse et m'a prodigué
tant de marques d'intérêt ;

A Monsieur HENRI-PHILIPPE H U S S O N

Chargé de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui m'a dirigé et conseillé
tout au long de ce travail ;



Digitized by the Internet Archive
in 2026

MOJEA PAI MAIK

https://archive.org/details/IA41549911_0021

A V A N T - P R O P O S

La structure de la paravallarine, premier alcaloïde extrait du Paravallaris microphylla Pitard (Apocynacées), a été élucidée par LE MEN en 1960 (1). Depuis, de nombreux travaux ont porté, tant sur la détermination de la structure des alcaloïdes majoritaires du Paravallaris microphylla Pitard (Kibatalia microphylla selon Woodson) et du Kibatalia githurensis Woodson (2), que sur l'étude de réactions chimiques propres à ces molécules (3).

A mon arrivée à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles dans le service du Professeur M-M. JANOT, Monsieur P. POTIER, Maître de Recherche, en accord avec Monsieur le Professeur J. LE MEN, me confia l'étude des alcaloïdes secondaires et des cétones du Paravallaris microphylla (Apocynacées) sous la direction quotidienne de Monsieur H-P. HUSSON, Chargé de Recherche.

Les résultats de ce travail seront présentés selon le plan suivant :

INTRODUCTION

- a) Généralités botaniques.
- b) Généralités chimiques.

CHAPITRE - I

EXTRACTION ET ISOLEMENT

- A. Alcaloïdes.
- B. Cétones.

CHAPITRE - II

ETUDES STRUCTURALES ET HEMISYNTHESES

- A. Alcaloïdes.
- B. Action de l'anhydride sélénieux en série amino -3 α ou - 3 β Δ_5 .
- C. Dérivés cétoniques.

PARTIE EXPERIMENTALE

CONCLUSION

Je ne saurais commencer cet exposé sans remercier :

- Le Centre National de la Recherche Scientifique
et le Comité Catholique contre la Faim et pour le Développement,
pour l'aide matérielle qu'ils m'ont apportée ;

- Mme Liliane ALAIS et Mme KORNPROBST pour la réalisation
des spectres de R.M.N. ;

- M. B.C. DAS et le service de spectrométrie de masse ;

- Mme PICOT pour l'enregistrement des spectres infrarouge
et ultraviolet ;

- Le service de microanalyse du C.N.R.S. ;

- MM. FORGACS et TIBERGHIEU et le Laboratoire ROGER
BELLON pour la fourniture des matières premières ;

ainsi que tous mes amis et collègues des laboratoires
de l'INSTITUT DE CHIMIE DES SUBSTANCES NATURELLES de Gif-sur-
Yvette.

I N T R O D U C T I O N

a) GENERALITES BOTANQUES

Depuis les travaux du botaniste M. PICHON (4), la famille des Apocynacées est subdivisée en trois sous-familles :

- Cerbéroïdées
- Plumiérioidées
- Echitoïdées.

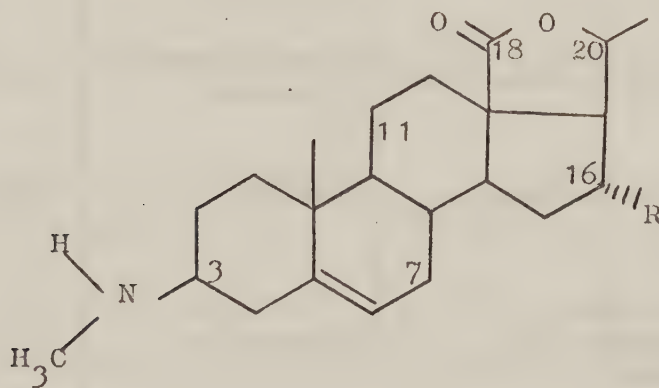
A l'exception des Nolarrhena, les plantes à alcaloïdes stéroïdiques appartiennent toutes à la sous-famille des Echitoïdées.

La sous-famille des Echitoïdées comprend une sous-tribu ne comportant que les deux genres Funtumia et Kibatalia. Le genre Kibatalia qui englobe, pour certains botanistes, le genre Paravallaris est constitué de dix-huit espèces qui croissent, exclusivement, dans le sud-est de l'Asie.

Le Paravallaris microphylla Pitard (Kibatalia microphylla selon Woodson) est un petit arbre à latex d'une dizaine de mètres de hauteur désigné sous les noms vernaculaires de CÂY dank, CÂY bank loi ou CÂY moc par les vietnamiens. On ne connaît pas d'emplois en médecine populaire pour les extraits de cette plante. Chacune des parties de cet arbre : feuilles, tiges ou racines renferme des alcaloïdes.

b) GENERALITES CHIMIQUES

Les alcaloïdes du Paravallaris microphylla et du Kibatalia gitingensis (Tableau 1) possèdent le squelette du prégnène-5 et sont particulièrement intéressants par la présence d'une fonction lactone 18 $\longrightarrow$ 20 (R) ou (S).



1 : R = H : paravallarine

2 : R = OH : paravallaridine

Les recherches effectuées jusqu'ici par LE MEN et coll. (1, 2a, 2b, 5, 6) ont conduit à l'isolement et à l'analyse structurale de huit alcaloïdes (Tableau 1) et de trois cétones (Tableau 2) à partir du Paravallaris microphylla et du Kibatalia gitingensis. D'autre part, G.A. Santos (7) a isolé la gitingensine ou amino-3 α hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 du même Kibatalia.

Alcaloïdes du Paravallaris microphylla et du Kibatalia gitingensis.

N O M S	ORIGINE	F	$[\alpha]_D$ (CHCl ₃)
Paravallarine (1)	Paravallaris Kibatalia	184°	-52°
N-méthyl paravallarine (5)	Paravallaris Kibatalia	140°	-37°
Epi-20 paravallarine (5)	Kibatalia	191°	-33°
Epi-3 N-méthyl paravallarine (2b) (Kibataline)	Kibatalia	171°	-42°
Hydroxy-2α N-méthyl epi-20 paravallarine (5)	Kibatalia	200°	-13°
Hydroxy-16α paravallarine (2a) (paravallaridine)	Paravallaris	231°	-48°
Hydroxy-16α N-méthyl paravallarine (2a)	Paravallaris	200°	-49°
Epi-3 N-desméthyl paravallarine (7) (Gitingensine)	Kibatalia	161°	-65°

T A B L E A U I

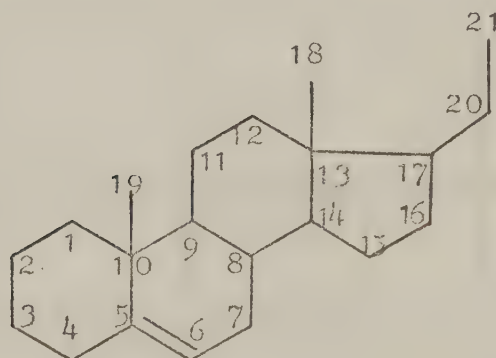
Cétones extraites du Paravallaris microphylla

N O M S	F	$\left[\alpha \right]_D^{20}$ (CHCl ₃)
Céto-3 hydroxy-20S oïque-18 lactone(—→20) prégnène-4 (6) <u>46</u>	198°	+92°
Céto-3 dihydroxy-16a, 20S oïque-18 lactone(—→20) prégnène-4 (6) <u>47</u>	242°	+44°
Céto-3 hydroxy-20S oïque-18 lactone(—→20) prégnadiène-4,6 (6) <u>48</u>	238°	+62°

T A B L E A U 2

NOMENCLATURE CHIMIQUE

Les alcaloïdes et les cétones du Paravallaris microphylla possèdent le squelette du prégnène-5.

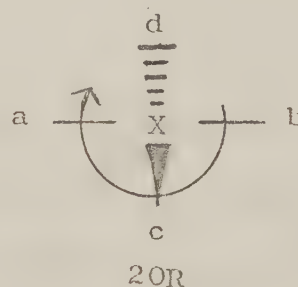
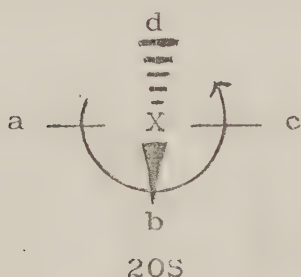


Pour désigner la stéréochimie du $C_{(20)}$ des dérivés hydroxy-20, nous avons adopté la convention de CAHN, INGOLD et PRELOG (8), utilisant les symboles R et S, car elle désigne, de façon non ambiguë, la configuration d'un atome de carbone, qu'il fasse partie d'une chaîne ou d'un cycle.

Configuration R et S

Soit un atome asymétrique X substitué par les groupes a, b, c, d. Les substituants a, b, c, d sont classés selon un ordre déterminé : admettons que l'on ait $a > b > c > d$

La molécule est observée du côté opposé au plus petit substituant d. Si le cercle, décrit en joignant successivement les atomes selon l'ordre décroissant, est parcouru dans le sens des aiguilles d'une montre, la configuration R (Rectus) est attribuée et inversement pour S (Sinister).



Les substituents a, b, c, d sont classés selon les règles suivantes :

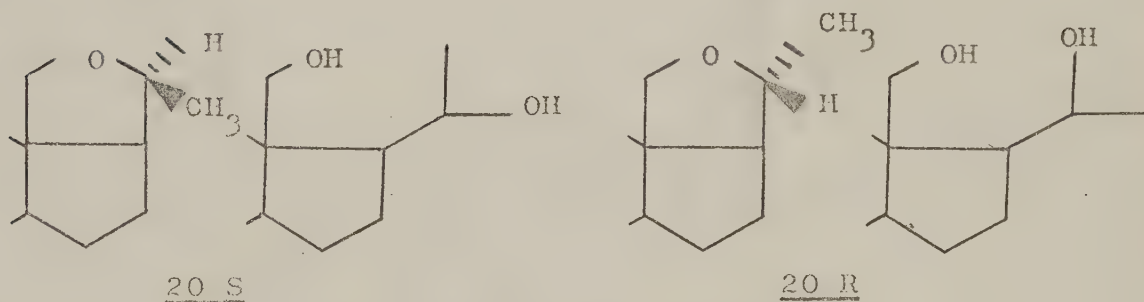
- 1 - Les groupements sont classés dans l'ordre décroissant des numéros atomiques des atomes directement attachés à l'atome asymétrique (substituents de premier ordre).
- 2 - Si deux atomes liés à l'atome asymétrique sont les mêmes, on considère leurs états respectifs de substitution (substituents de second ordre) :

- les atomes substitués par d'autres atomes de numéros atomiques plus élevés l'emportent.

- si le deuxième atome ne présente pas de différence, on examine le troisième et ainsi de suite en suivant toujours les chaînes ayant des numéros atomiques les plus élevés.

3 - Dans le cas de substituants isotopes, celui de plus forte masse devient le premier.

Nous appliquerons cette convention pour le carbone 20 du squelette stéroïdique.



Selon un usage admis, les fonctions portées par le carbone 20, non engagé dans un cycle, seront représentées à droite pour la stéréochimie 20S et vers le haut pour 20R.

CHAPITRE I

EXTRACTION ET ISOLEMENT

A - EXTRACTION DES ALCALOÏDES

Les feuilles de *Paravallaris microphylla*, après avoir été séchées et pulvérisées, sont alcalinisées par de l'ammoniaque au tiers et extraites par de l'éther. Le solvant est distillé sous vide et le résidu, repris par de l'éther, est agité avec une solution aqueuse d'acide oxalique. La solution acide est ensuite alcalinisée à pH 9-10 par de l'ammoniaque et les bases brutes sont extraites par du chlorure de méthylène. Les alcaloïdes totaux obtenus représentent 10 à 12g par kilogramme de feuilles. Les bases brutes sont traitées dans le

benzène à reflux. Les alcaloïdes secondaires sont solubles dans ces conditions. L'insoluble est constitué, en majorité, par de la paravallaridine 2. La solution benzénique est évaporée à sec et le résidu est repris trois fois par du cyclohexane bouillant. Après refroidissement de la solution organique et filtration de l'insoluble, on obtient une solution riche en paravallarine 1.

Une chromatographie sur colonne d'alumine (activité II-III) de cette fraction soluble dans le cyclohexane permet d'isoler deux alcaloïdes AP_1 et AP_2 en plus de la paravallarine 1 majoritaire.

L'insoluble dans le cyclohexane contient de la paravallaridine 2 et les alcaloïdes secondaires plus polaires. Par cristallisations successives dans l'acétone, une partie de la paravallaridine 2 est éliminée. Les eaux-mères sont ensuite chromatographiées sur alumine (activité II-III). On isole, ainsi, un mélange de deux alcaloïdes AP_3 et AP_4 , puis les alcaloïdes AP_5 et AP_6 purs. Une distribution à contre-courant (appareil Quickfit) suivie d'une sublimation sous vide permet de séparer les alcaloïdes AP_3 et AP_4 .

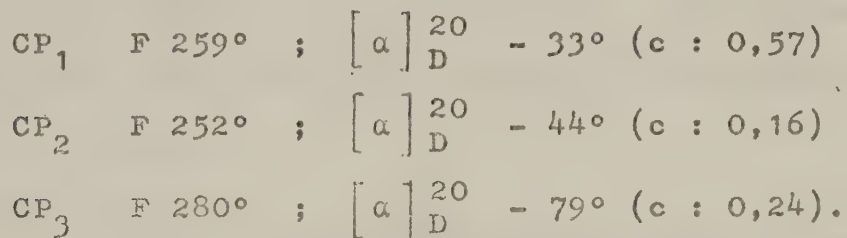
En conclusion, les alcaloïdes suivants ont été isolés à l'état pur :

AP ₁	:	F 171°C	;	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	42°	(c : 1,40)
AP ₂	:	F 140°C	:	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	37°	(c : 0,50)
AP ₃	:	F 213°C	:	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	113°	(c : 0,27)
AP ₄	:	F 210°C	:	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	14°	(c : 0,55)
AP ₅	:	F 235°C	;	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	55°	(c : 0,72)
AP ₆	:	F 230°C	;	$\left[\alpha \right]_D^{20}$	-	25°	(c : 0,38)

B - EXTRACTION DES CETONES

Les dérivés cétoniques du Paravallaris microphylla sont extraits à partir du résidu provenant de la concentration de la phase étherée épuisée par une solution aqueuse d'acide oxalique lors de l'extraction des alcaloïdes (vide supra). Ce résidu "éther-oxalique" est mis en solution dans un mélange butanol-benzène (80 : 20) à reflux. Après élimination d'un très faible insoluble, la phase organique est lavée par de l'eau distillée puis portée à reflux 1 heure, sous atmosphère d'azote, en présence de réactif "T" de GIRARD et SANDULESCO et d'acide Après retour à la température du laboratoire, le milieu réactionnel

nel est jeté sur de la glace pilée et la phase aqueuse est récupérée après décantation. Après neutralisation, la phase aqueuse est lavée par du benzène puis acidifiée à pH 1,5 par de l'acide sulfurique pour hydrolyser les "dérivés de Girard". Les dérivés cétoniques sont ensuite extraits par du benzène puis par du chloroforme. Par chromatographies successives des extraits benzéniques et chloroformiques sur colonne d'alumine, trois nouvelles cétones ont été obtenues :



CH A P I T R E I I

ETUDE STRUCTURALE

ET

HEMISYNTHESES

A - ALCALOIDES

Parmi les six alcaloïdes extraits du Paravallaris microphylla, deux ont été identifiés à des alcaloïdes déjà isolés dans le Kibatalia gitingensis :

- AP₁ : Kibataline ou diméthylamino-3 α hydroxy-20S
oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 (2b).
- AP₂ : N-méthylparavallarine ou diméthylamino-3 β
hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 (5).

Les structures des quatre autres alcaloïdes, nouveaux, ont été établies sur la base de leurs propriétés spectrales et chimiques :

- AP₃ : Hydroxy-7 α paravallarine ou méthylamino-3 β
dihydroxy-7 α , 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5
- AP₄ : Hydroxy-7 β paravallarine ou méthylamino-3 β
dihydroxy-7 β , 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5
- AP₅ : Hydroxy-11 α paravallarine ou méthylamino-3 β
dihydroxy-11 α , 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5
- AP₆ : Hydroxy-11 α dihydroparavallarine ou méthylamino-3 β
dihydroxy-11 α , 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5 α

ALCALOÏDE AP₁ F 171° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 42^\circ$ 3 (Tableau 3).

L'alcaloïde AP₁ répond à l'analyse centésimale C₂₃H₃₅O₂N et présente, en spectrométrie de masse, un pic M⁺ à m/e 357 et un ion important à m/e 84 caractéristique du système diméthylamino-3 Δ -5 en série stéroïde (9,10). Dans le spectre infrarouge apparaît une bande à 1.750 cm⁻¹ attribuable à une γ -lactone. L'examen du spectre de résonance magnétique nucléaire de AP₁ montre que cet alcaloïde appartient à la série diméthylamino-3 Δ lactone 18 $\longrightarrow$ 20S prégnène-5 ; on note en effet :

^{CH}₃(19) singulet à δ 1,16 ppm

$\text{CH}_3(21)$ doublet à δ 1,36 ppm ($J = 6,0$ cps)

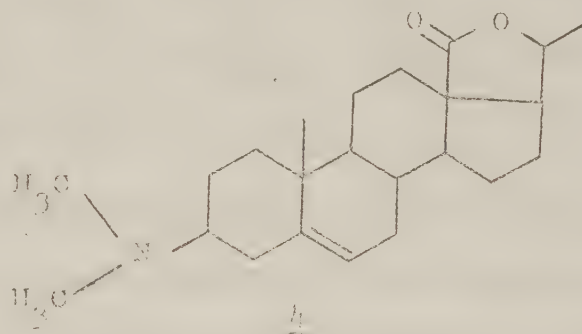
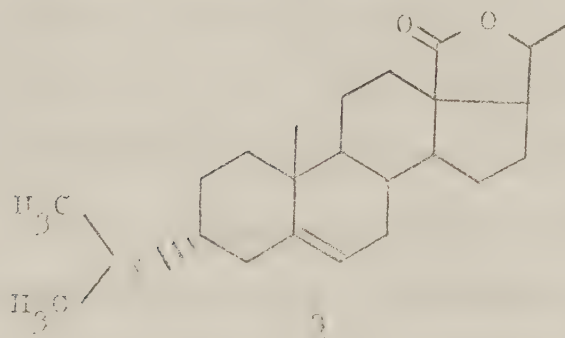
$\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en $\text{C}(3)$ singulet à δ 2,21 ppm

H en $\text{C}(20)$ quadruplet à δ 4,70 ppm

$$\left[\begin{array}{l} J'_{\text{H}20-\text{H}17} = 4,5 \text{ cps} \\ J_{\text{H}20-\text{H}21} = 6,0 \text{ cps} \end{array} \right]$$

H en $\text{C}(6)$ multiplet à δ 5,3 ppm.

Les propriétés physiques et spectrales de l'alcaloïde AP_1 permettent de l'identifier à la kibataline 3 précédemment isolée du Kibatalia gitingensis (2 b).



ALCALOÏDE AP₂ F 140° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 37^\circ \underline{4}$ (Tableau 3)

L'alcaloïde AP₂ répond à la même analyse centésimale C₂₃H₃₅O₂N que l'alcaloïde AP₁. De plus, la fragmentation de AP₂ en spectrométrie de masse est identique à celle de AP₁. Ces résultats prouvent que les alcaloïdes AP₁ et AP₂ sont des épimères. Les constantes physiques (F, $\left[\alpha \right]_D$, R.M.N.) de AP₂ sont identiques à celles de la N-méthylparavallarine 4 (5). L'alcaloïde AP₂ est donc le diméthylamino-3β hydroxy-20S oïque-18 lactone(—→ 20) prégnène-5. Les alcaloïdes AP₁ et AP₂ diffèrent uniquement par leur stéréochimie en C(3). Cette différence de structure est facilement mise en évidence par examen des spectres de résonance magnétique nucléaire des épimères enregistrés dans l'acide trifluoroacétique (11, 12). En effet, dans ces conditions, le groupement diméthylamino-3β protoné apparaît normalement sous forme d'un doublet δ à 3,06 ppm (J = ca 5 cps) dû à l'interaction avec NH^+ . Dans le cas des groupements méthyles géminaux en position 3α axiale, il y a non-équivalence des méthyles à cause de l'environnement asymétrique apporté par la double liaison 5-6 proche : le groupement diméthylamino apparaît alors sous forme de deux doublets à δ 3,02 et 3,11 ppm (J = ca 5 cps).

ALCALOÏDE AP₃ F 213° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 113^\circ$ 5 (Tableau 4).

ALCALOÏDE AP₄ F 210° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 14^\circ$ 10 (Tableau 4).

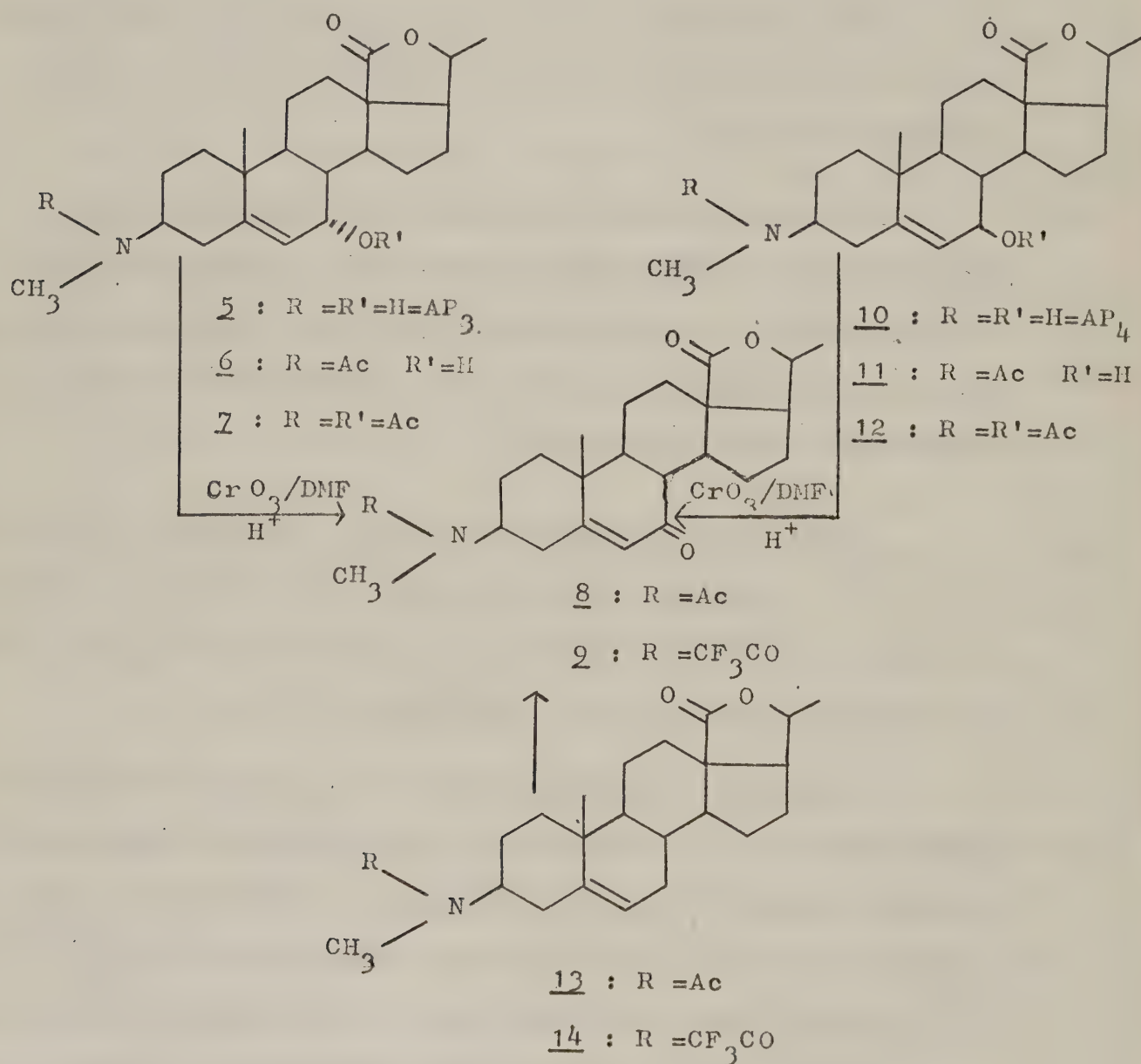
Les alcaloïdes AP₃ et AP₄ répondent à la même analyse centésimale C₂₂H₃₃O₃N, ce qui en fait des isomères de la paravallaridine 2.

Dans les spectres infrarouge des alcaloïdes AP₃ et AP₄ apparaît la même bande à 1.750 cm⁻¹ attribuable à une γ - lactone. De plus, dans la région des hydroxyles, on note, pour AP₃, des bandes à 3.280 et 3.130 cm⁻¹ et pour AP₄, des bandes à 3.300 et 3.150 cm⁻¹.

Traités par l'anhydride acétique, en présence de méthanol, AP₃ et AP₄ conduisent respectivement aux dérivés N - acétylés 6 et 11 ; l'anhydride acétique et la pyridine conduisent toutes les deux aux dérivés N-et O - diacétylés 7 et 12.

L'oxydation chromique de 6 et 11 permet d'obtenir la même cétone α , β - insaturée 8. Les caractéristiques spectrales de cette cétone [spectre infrarouge : $\nu(C=C) = 1.633$ cm⁻¹, $\nu(C=O) = 1.674$ cm⁻¹ ; spectre ultraviolet : $\lambda_{\text{max}}^{\text{éthanol}} = 240$ m μ , $\epsilon = 14.200$] sont en accord avec la structure Δ_5 oxo -7 en série stéroïde (13). L'oxydation allylique en position 7, au moyen du chromate de sodium (14) de la N - acétyl paravallaridine 13, conduit à la même cétone α , β - insaturée 8.

Cette corrélation fixe la structure des alcaloïdes AP₃ et AP₄ : ce sont les méthylamino -3β dihydroxy -7~~Ξ~~, 20S oïque-18 lactone(→20) prégnène-5.



T A B L E A U 4

L'examen des différences de rotations moléculaires permet d'attribuer la configuration hydroxy - 7α pour AP_3 et hydroxy - 7β pour AP_4 .

En effet, les valeurs données dans le tableau 5 sont en parfait accord avec ce qui a été observé (15, 16) pour des stéroïdes Δ_5 - hydroxylés en $C_{(7)}$.

ROTATIONS MOLECULAIRES (M_D)
DE LA PARAVALLARINE ET DE SES DERIVES

C O M P O S E S	M_D	ΔM_D
Paravallarine <u>1</u>	- 178	
Dérivé N - acétyl <u>13</u>	- 173	
Hydroxy - 7α paravallarine <u>5</u> (AP_3)	- 405	- 227
Dérivé N - acétyl <u>6</u>	- 372	- 199
Dérivé N et O - acétyl <u>7</u>	- 764	- 591
Hydroxy - 7β paravallarine <u>10</u> (AP_4)	- 48	+ 130
Dérivé N - acétyl <u>11</u>	- 68	+ 105
Dérivé N et O - acétyl <u>12</u>	+ 126	+ 299

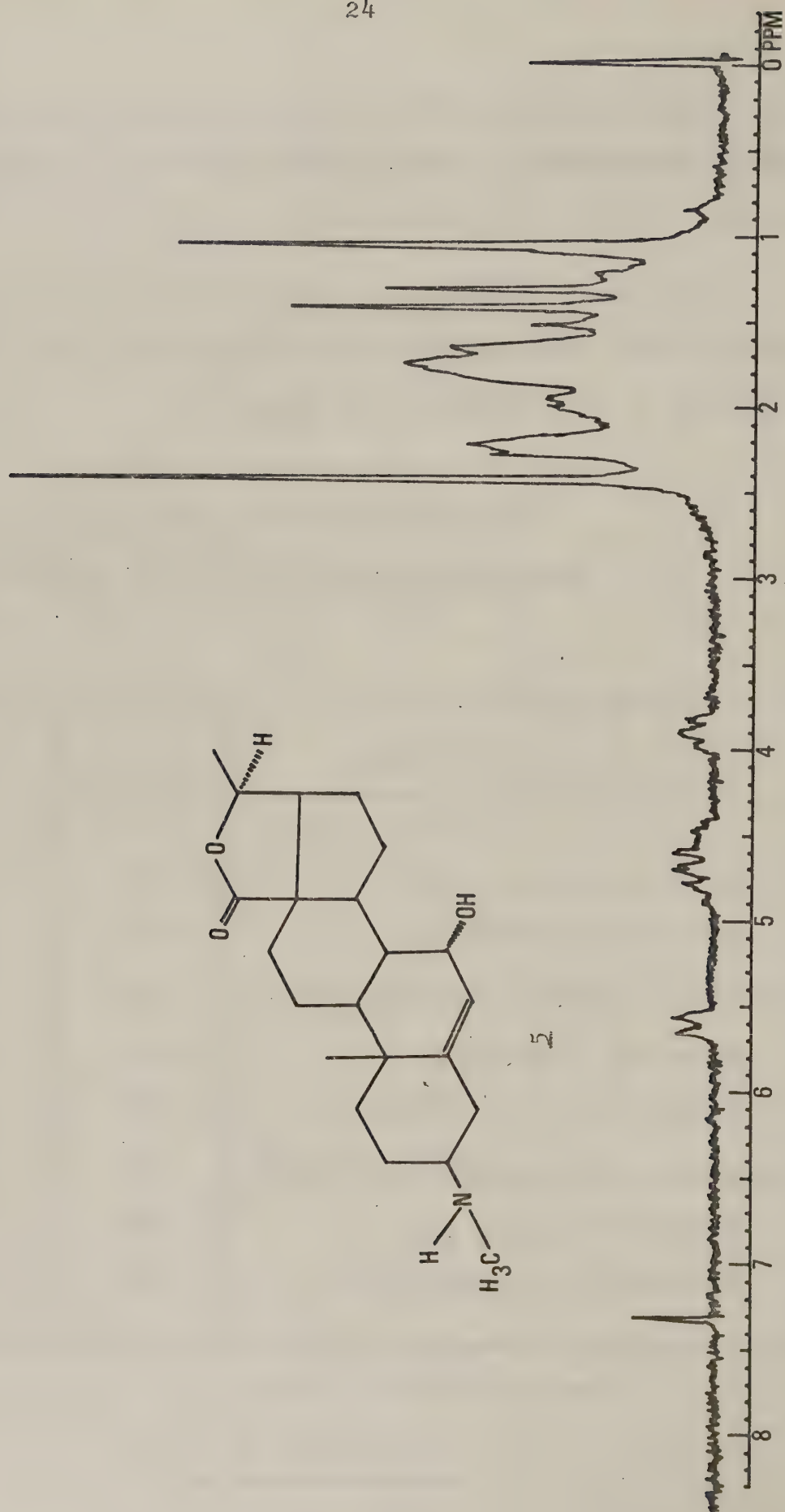


FIGURE 1

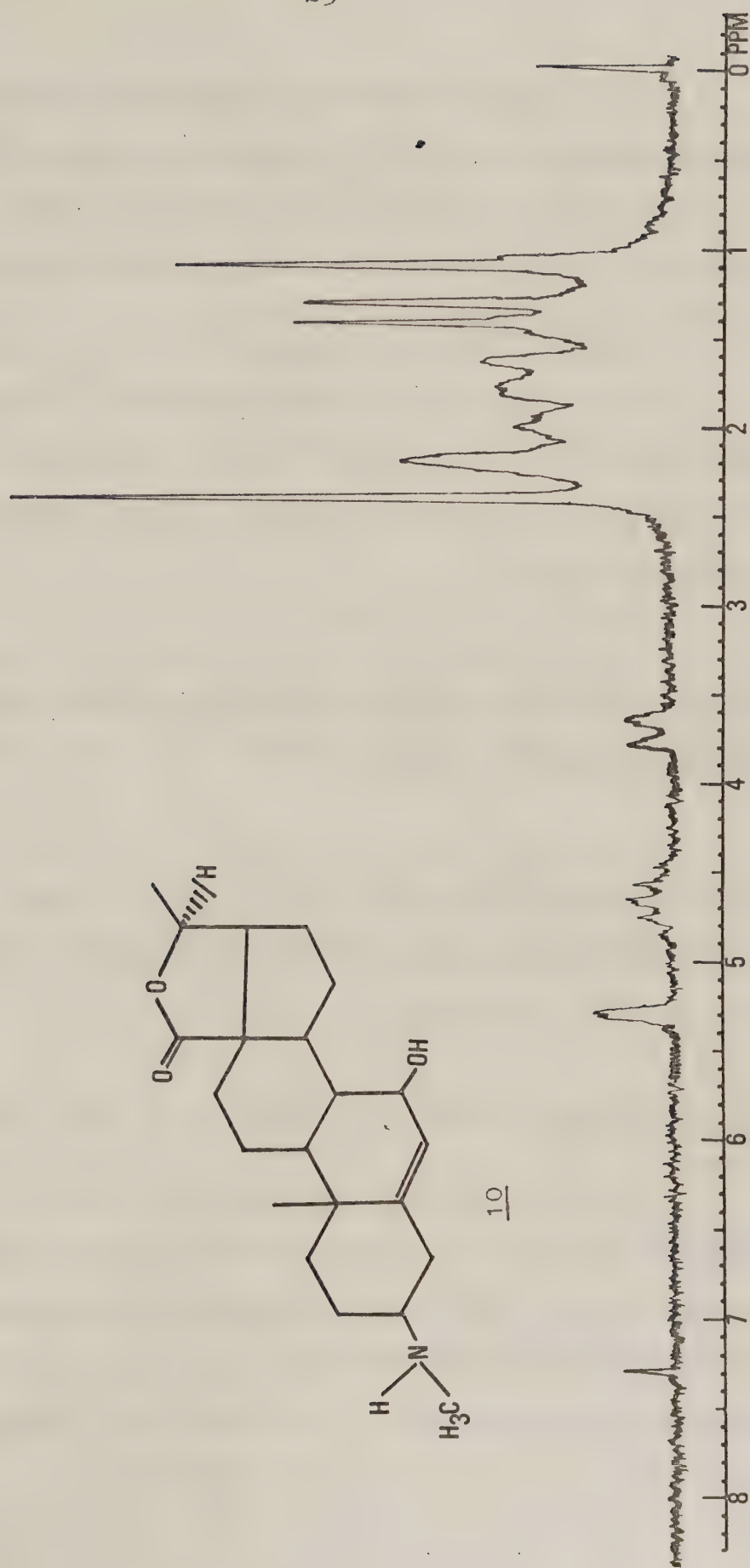


FIGURE 2

La résonance magnétique nucléaire corrobore ces résultats : (Figure N° 1 et 2) le proton en C₍₆₎ résonne à δ 5,61 ppm ($J = 5\text{cps}$) pour AP₃ et à δ 5,31 ppm ($J = 2\text{cps}$) pour AP₄ ; le proton en C₍₇₎ apparaît à δ 3,91 ppm (triplet) pour AP₃ et à δ 3,73 ppm (doublet) pour AP₄.

Etant donné qu'un proton équatorial résonne à champ plus faible que son analogue axial (17), le proton en C₍₇₎ est équatorial (β) pour le dérivé AP₃ et l'hydroxyle est par conséquent axial (α).

La réduction de la cétone 2 par le borohydrure de sodium conduit aux alcools 5 et 10 respectivement identiques aux alcaloïdes AP₃ et AP₄.

Il est intéressant de noter la présence simultanée des deux alcools épimères en C₍₇₎ dans la même plante. Il ne semble pas que ce fait ait déjà été signalé dans les plantes à alcaloïdes stéroïdiques.

ALCALOÏDE AP₅ F 235° ; $\left[\alpha \right]_{\text{D}}^{20} - 55$ 15 (Tableau 6).

L'analyse élémentaire C₂₂H₃₃O₃N montre que ce nouvel alcaloïde est aussi un isomère de la paravallaridine 2. Le spectre de masse présente, en dehors du pic moléculaire à m/e 359, un pic à m/e 341 (M - 18) et un pic à m/e 70 qui constitue le pic de base ; ce spectre est caractéristique

d'un dérivé méthylamino - 3 Δ_5 - stéroïde (9, 10), comportant, de plus, un groupe hydroxyle. Le spectre de résonance magnétique nucléaire de AP₅ est en accord avec ce type de molécule. On note, en effet :

CH₃(19) singulet à δ 1,23 ppm

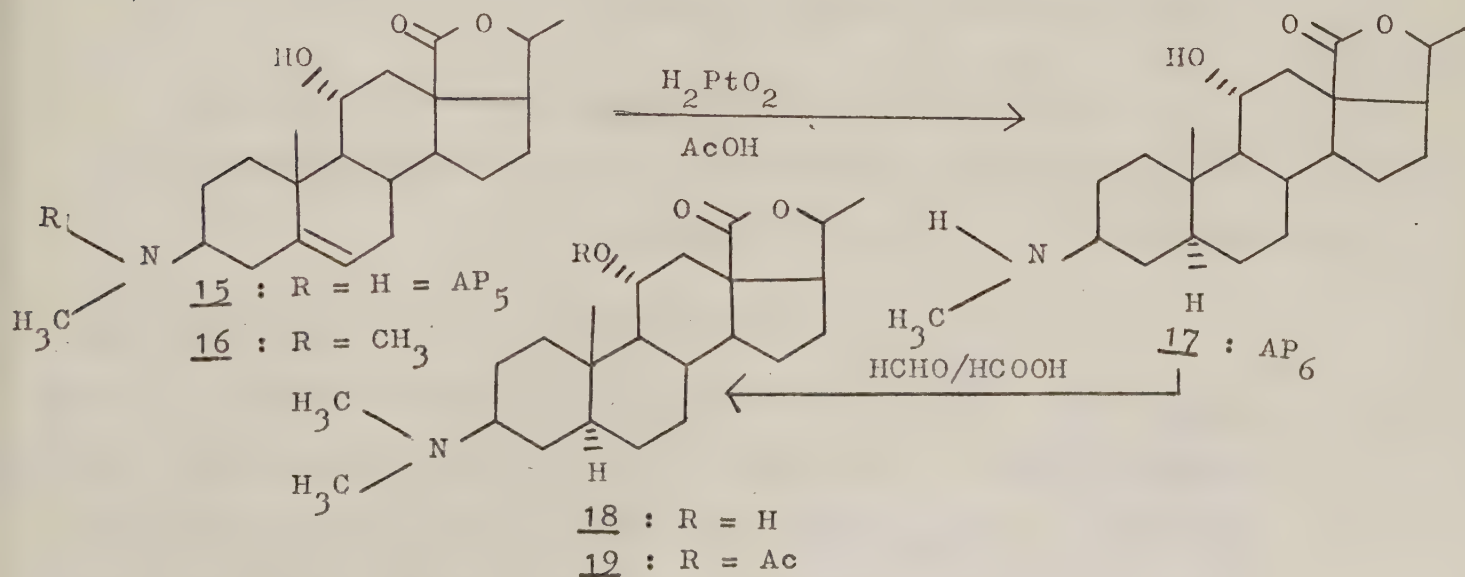
CH₃(21) doublet à δ 1,32 ppm (J = 6,5 cps)

NHCH₃ en C(3) singulet à δ 2,39 ppm

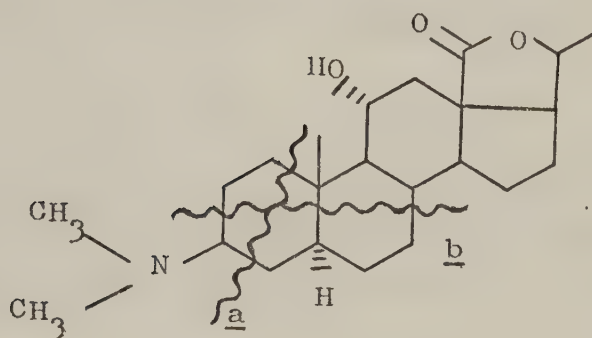
H en C(6) multiplet à δ 5,38 ppm.

Le spectre infrarouge montre une bande à 1.750 cm⁻¹ attribuée à une γ - lactone et des bandes à 3.320 et 3.240 cm⁻¹.

La saturation de la double liaison de AP₅ par l'hydrogène en présence de platine Adams, dans l'acide acétique, conduit au dérivé dihydrogéné 17.



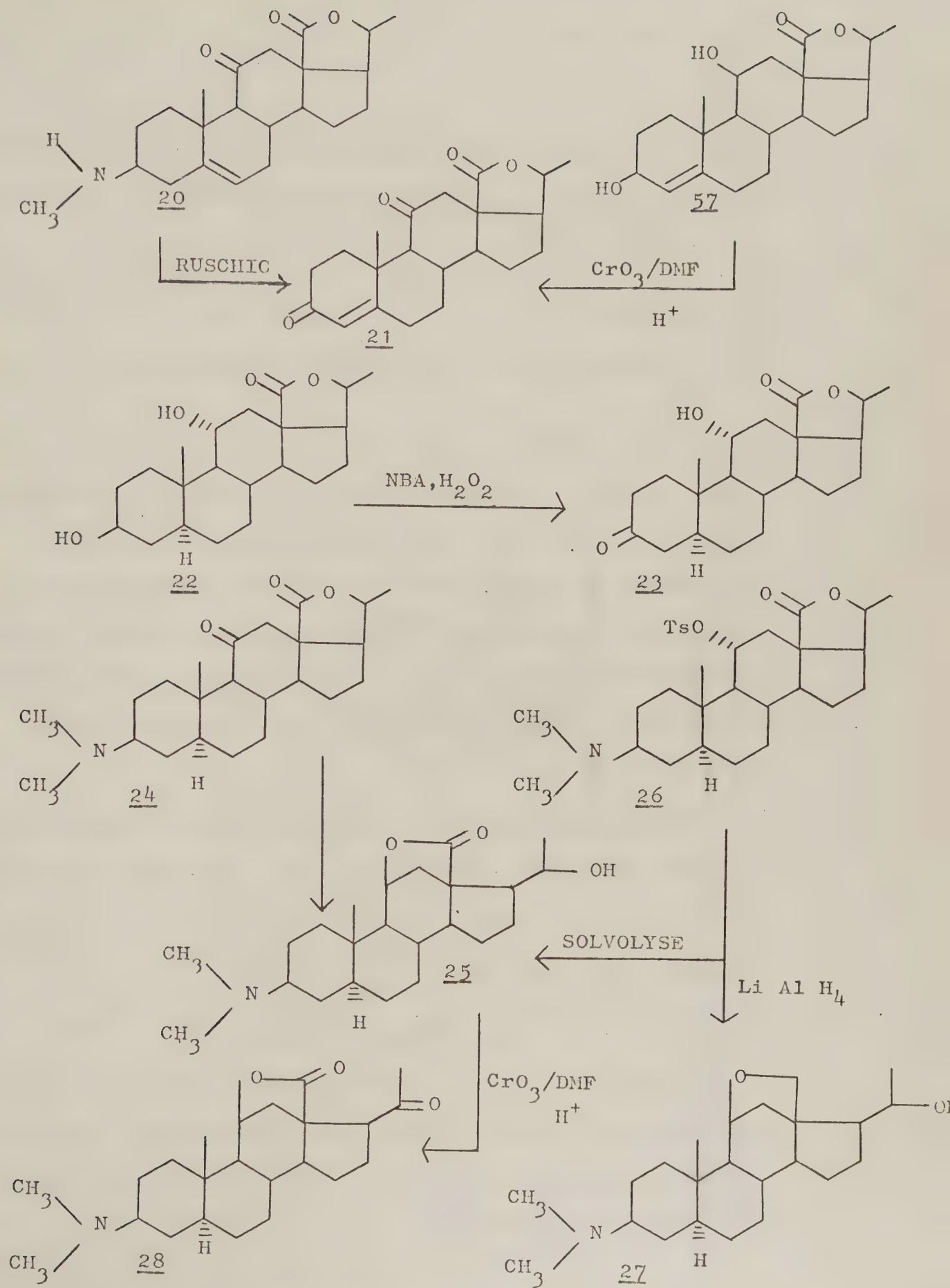
La méthylation de 17 selon ESCHWEILER - CLARKE (18) permet d'obtenir le dérivé 18 ($C_{23}H_{37}O_3N$) qui donne en spectrométrie de masse des fragmentations importantes à m/e 84 et à m/e 110. Ces ions sont respectivement caractéristiques de la coupure de la molécule selon a et b (9,10) :



Ces résultats excluent les positions $C_{(1)}$, $C_{(2)}$, $C_{(4)}$, $C_{(5)}$, $C_{(6)}$ et $C_{(7)}$ pour la fonction alcool.

L'acétylation par le mélange anhydride acétique - pyridine de cet hydroxyle (18 $\longrightarrow$ 19) permet d'écarter la présence d'un alcool tertiaire.

L'oxydation de l'alcaloïde AP_5 mène à une cétone 20 ($C_{22}H_{31}O_3N$), que présente, en infrarouge, une bande à 1.705cm^{-1} caractéristique d'une cétone dans un cycle hexacarboné. La fonction hydroxyle de AP_5 ne peut donc être située que sur le $C_{(11)}$ ou le $C_{(12)}$. Les couplages observés, en résonance magnétique



nucléaire, du dérivé 16 (Figure N° 3) pour le proton jouxtant la fonction alcool secondaire, correspondent à ce que l'on observe pour un proton de configuration 11β (19) :

Deux couplages a - a ($J = 10,5$ cps) avec H 9 et H 12α .

Un couplage a - e ($J = 5,0$ cps) avec H 12β .

La fonction alcool serait donc en position 11α .

Cette preuve est corroborée par les propriétés chimiques de la molécule qui sont celles des stéroïdes hydroxy- 11α lactone $18 \longrightarrow 20$ (20, 21). En effet, la réduction, par le borohydrure de sodium, de la cétone 24 (obtenu par oxydation chromique de 18) fournit l'alcool 25 ($C_{23}H_{37}O_3N$) qui peut, également, être obtenu par solvolysse du tosylate 26 (préparé à partir de 18).

L'oxydation de l'alcool 25 ne redonne pas la cétone 24 mais une cétone isomère 28 ($C_{23}H_{35}O_3N$) dont les propriétés spectrales sont caractéristiques d'une cétone en $C_{(20)}$:

Spectre infrarouge $\sqrt{C=O}$: 1.700 cm^{-1}

Spectre de R.M.N. $CH_3(21)$: singulet à $\delta 2,13$ ppm.

La réduction par $Li\ Al\ H_4$ de la fonction lactone de 26 conduit directement au dérivé oxydo- 11β , 18 27 par attaque nucléophile interne, à partir de l'alcool formé en $C_{(18)}$, du tosylate- 11α .

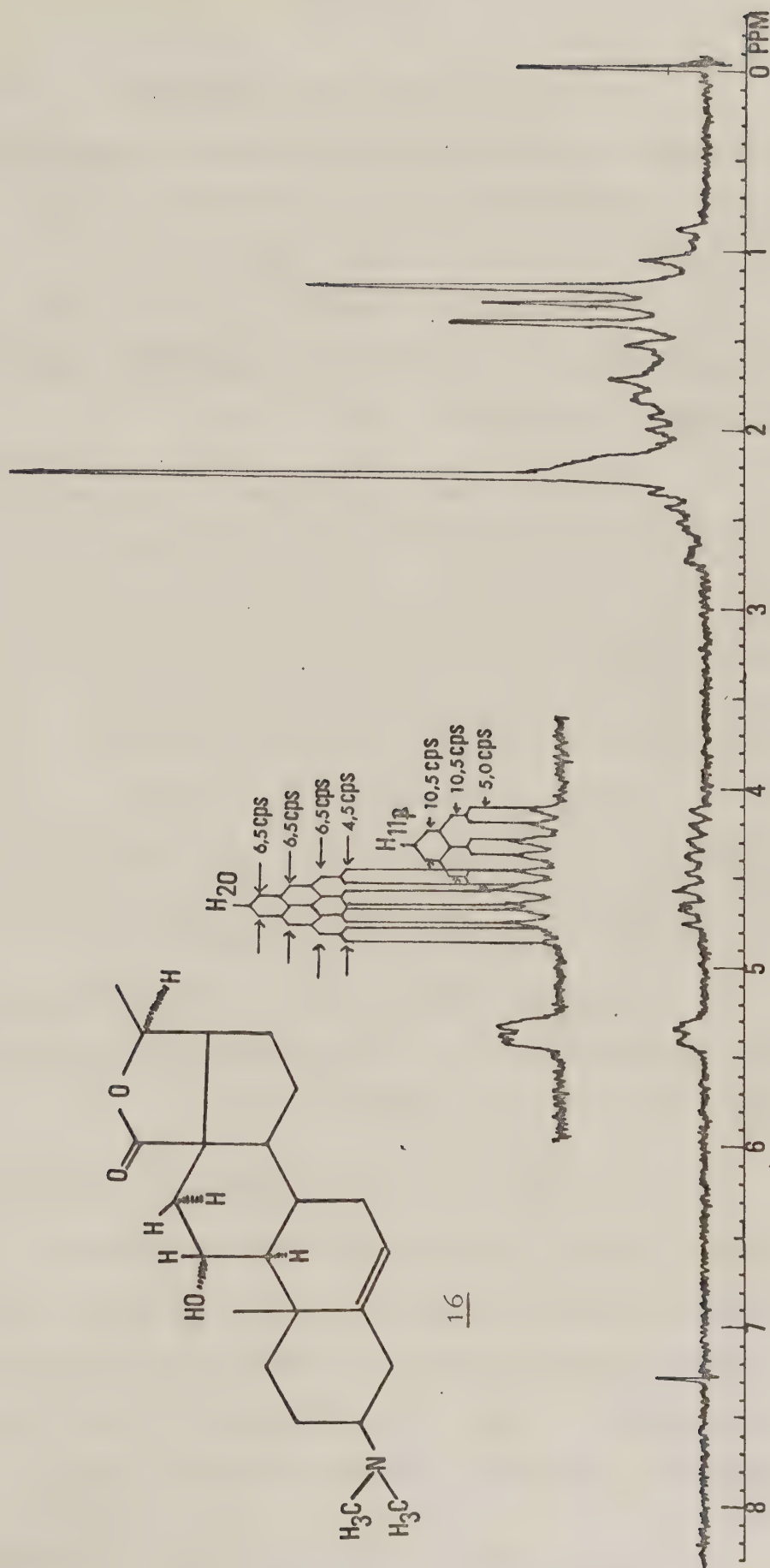


FIGURE 3

La désamination, selon RUSCHIG, de la fonction amine secondaire de 17 conduit à la cétone 23 identique au produit obtenu par hydroxylation biologique* du céto-3 hydroxy-20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnane-5 α dérivé de la paravallarine 1 (1). Ce dérivé 23 a été également obtenu par oxydation sélective de 22 au moyen du N-bromoacétamide et de l'eau oxygénée à 30% (50).

La stéréochimie au niveau de C₍₃₎ est aisément déterminée par examen du spectre de résonance magnétique du dérivé N-méthylé 16 de l'alcaloïde AP₅ enregistré dans l'acide trifluoroacétique (11, 12). L'équivalence du groupe diméthylamino protoné indique une stéréochimie 3 β .

La configuration du C₍₂₀₎ est 20S : le proton en C₍₂₀₎ apparaît en effet sous forme d'un quadruplet dédoublé (22) à 4,67 ppm ($J_{H20-H21} = 6,5$ cps, $J'_{H20-H17} = 4,5$ cps)

L'alcaloïde AP₅ a donc la structure 15 et est l'hydroxy-11 α paravallarine ou méthylamino-3 β dihydroxy-11 α , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-5.

L'isolement de cet alcaloïde est intéressant car ce produit naturel constitue le premier exemple d'un aminostéroïde oxygéné à la fois en C₍₁₁₎, C₍₁₈₎ et C₍₂₀₎. Cette molécule conduit, après oxydation et désamination, à la dicétone 21 intermédiaire connu d'une hémisynthèse de l'aldostérone effectuée par JEGER, WETTSTEIN et al. (21).

* Echantillon aimablement fourni par les Laboratoires "ELI LILLY AND CO.", INDIANAPOLIS.

ALCALOÏDE AP₆ F 230° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 25,2^\circ$ 17 (Tableau 6)

L'alcaloïde AP₆, le plus polaire de tous les alcaloïdes isolés jusqu'ici du Paravallaris microphylla, répond à l'analyse centésimale C₂₂H₃₅O₃N et le spectre de masse du dérivé méthylé 18 montre deux fragmentations importantes à m/e 84 et m/e 110 suggérant une structure diméthylamino-3 pour un stéroïde saturé en 5-6 (9,10). L'aspect du spectre de résonance magnétique nucléaire de AP₆ oriente les recherches vers la série diméthylamino-3 dihydroxy-11α, 20S oïque-18 lactone(→ 20) prégnane-5α et le spectre infrarouge atteste l'identité de l'alcaloïde AP₆ avec le dérivé dihydrogéné 17 de l'alcaloïde AP₅.

Il faut noter, à propos de cet alcaloïde, qu'il constitue le seul exemple de dérivé hydrogéné en 5-6 d'un alcaloïde contenu dans le Paravallaris microphylla et que, par ailleurs, cet alcaloïde est le moins abondant de tous.

B - ACTION DE L'ANHYDRIDE SELENIEUX EN SERIEAMINO - 3 α ou 3 β Δ_5

Afin d'aider à l'identification de quelques alcaloïdes se trouvant dans le Paravallaris microphylla en quantité beaucoup plus faible que ceux isolés précédemment, la préparation de dérivés hydroxy-4 β dans les séries amino-3 α ou 3 β lactone-18 $\longrightarrow$ 20S prégnène-5 a été envisagée. On connaît, en effet, certains stéroïdes naturels aminés en C₍₃₎ et hydroxylés en C₍₄₎ (23).

Des travaux anciens (24) montrent que l'oxydation du cholestérol par l'anhydride sélénieux conduit à deux composés isomères : le dihydroxy-3 β , 4 ξ cholestène-5 et le dihydroxy-3 β , 6 ξ cholestène-4. Bertho (25) a utilisé cette méthode pour préparer l'" α -hydroxy conessine" à partir de la conessine. GOUTAREL, CONREUR et PARELLO (26) ont confirmé la structure de l'hydroxy-4 conène-5 proposée par Bertho (27) pour l'" α -hydroxy conessine".

Cette réaction a également été mise à profit ici pour préparer les dérivés hydroxy-4 β que nous recherchions dans la plante.

Toutefois, l'examen des produits formés au cours de l'oxydation par l'anhydride sélénieux a permis, en outre, de mettre en évidence les dérivés hydroxy-6 β et les diènes-4, 6

dont la formation, dans ces conditions, ne semble pas avoir été antérieurement signalée en série stéroïde aminée en C₍₃₎.

Dans tous les cas, l'oxydation a été effectuée avec l'anhydride sélénieux (1,5 fois le poids de stéroïde aminé) dans l'eau à reflux pendant 3 heures et sous atmosphère d'azote. Les produits ont été séparés du mélange réactionnel par chromatographie sur colonne d'alumine standardisée (activité II - III).

La réaction a d'abord été réalisée sur l'alcaloïde AP₂ ou N-méthylparavallarine (5) 4 précédemment isolée. Cet alcaloïde possède le même enchaînement diméthylamino-3 β Δ ₅ que la conessine (28).

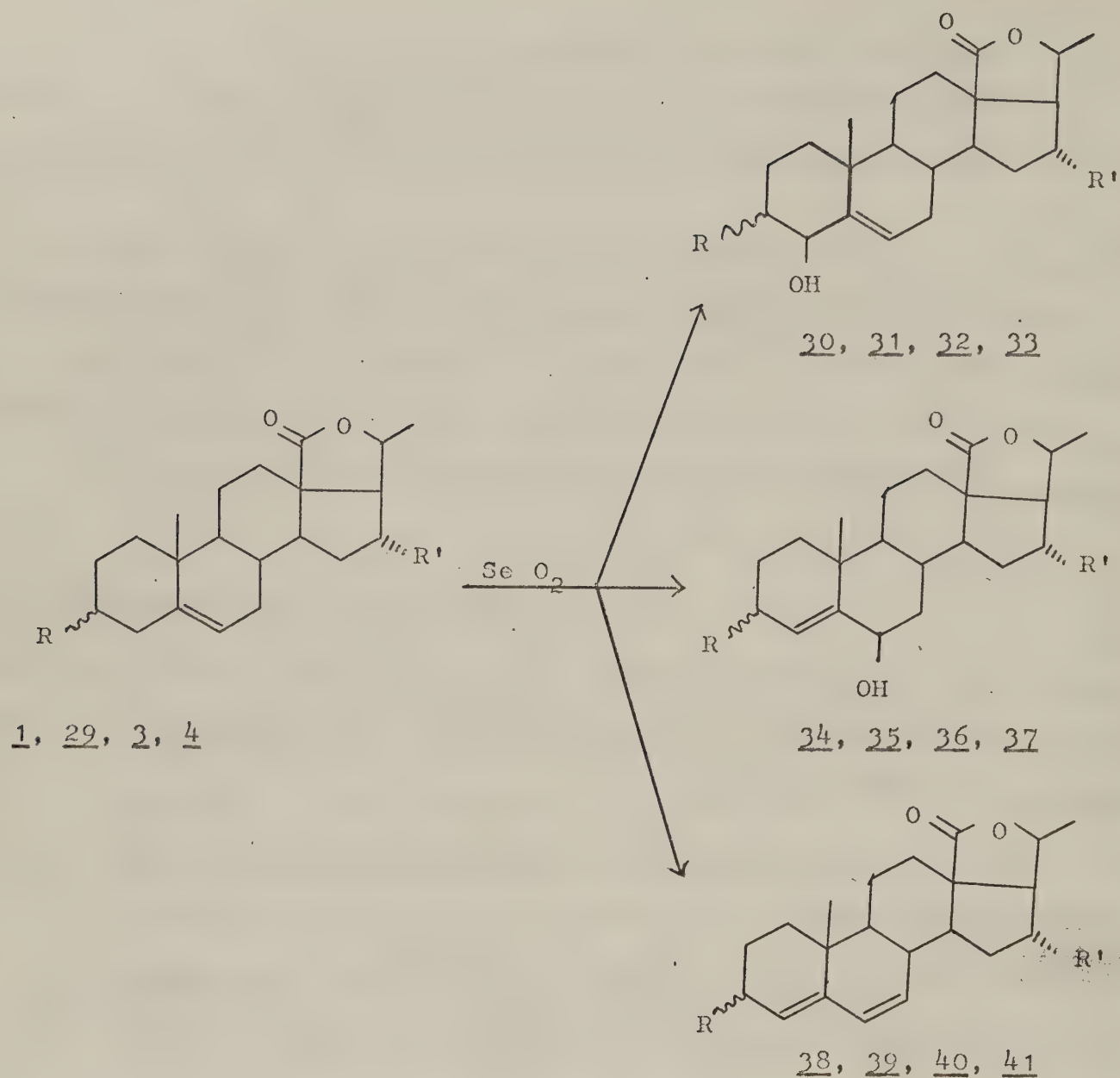
Trois dérivés de polarités croissantes ont été isolés (Tableau 8) :

- a) Un composé peu polaire auquel la structure diénique 41 a été attribuée sur les bases suivantes :

l'analyse centésimale élémentaire conduit à la formule brute C₂₃H₃₃O₂N (spectrométrie de masse, pic M⁺ à m/e 355).

Le spectre infrarouge présente des bandes à 3.020 cm⁻¹ et 1.640 cm⁻¹ caractéristiques d'une insaturation.

Le spectre ultraviolet montre qu'il s'agit d'un diène conjugué hétéroannulaire $\left[(\lambda)_{\text{max}}^{\text{éthanol}} \right. 239\text{m}\mu, \epsilon \text{ 28.900 et } 232\text{m}\mu, \epsilon \text{ 26.800} \left. \right]$



$\text{R} = \text{NH}(\text{CH}_3) - 3\beta$	$\text{R}' = \text{H}$	: 1, 30, 34, 38
$\text{R} = \text{N}(\text{CH}_3)_2 - 3\beta$	$\text{R}' = \text{OH}$	: 29, 31, 35, 39
$\text{R} = \text{N}(\text{CH}_3)_2 - 3\alpha$	$\text{R}' = \text{H}$	: 2, 32, 36, 40
$\text{R} = \text{N}(\text{CH}_3)_2 - 3\beta$	$\text{R}' = \text{H}$	: 4, 33, 37, 41

Cette structure est confirmée par le spectre de résonance magnétique nucléaire qui présente trois protons vinyliques dont les signaux peuvent être interprétés de la façon suivante :

$H_{(4)}$: doublet centré sur 5,36 ppm ($J_{4-3} = 2$ cps) ;
 $H_{(6)}$: doublet centré sur 5,50 ppm ($J_{6-7} = 10$ cps) ;
 $H_{(7)}$: quadruplet centré sur 5,95 ppm ($J_{6-7} = 10$ cps ;
 $J'_{7-8} = 2,5$ cps).

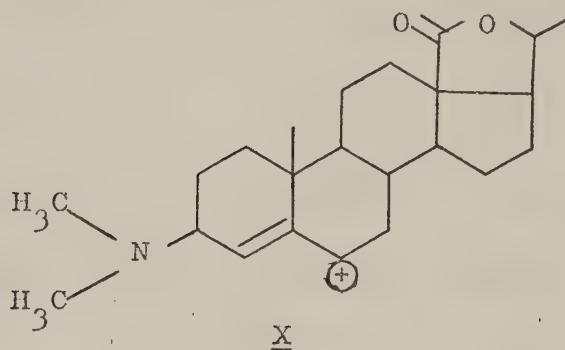
Ce diène 4,6 est l'analogue de la "dehydroconessine" obtenue par Bertho (29) par action de l'oxychlorure de phosphore dans le benzène ou par Haworth et Michael (30) par oxydation au moyen de l'eau oxygénée.

b) Le second produit isolé est le dérivé hydroxy-4 β prégnène-5, 33 dont les caractéristiques spectrales (R.M.N. et spectrographie de masse du dérivé dihydrogéné 42) sont en accord avec les valeurs données par GOUTAREL et Coll. (26).

c) Le troisième composé, le plus polaire, est l'hydroxy-6 β prégnène-4, 37. En effet :

- l'analyse centésimale élémentaire conduit à lui attribuer la formule $C_{23}H_{35}O_3N$, ce qui en fait un isomère de l'hydroxy-4 β 33 ;

- le spectrogramme de masse confirme l'analyse et est caractérisé de plus par un ion x à m/e 356 (M - 17) d'intensité plus grande que celle du pic moléculaire à m/e 373.

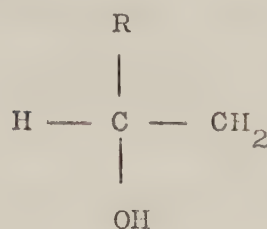


Cet ion à m/e : (M-17) existe dans les composés analogues 34, 35 et 36 obtenus dans les mêmes conditions à partir de 1, 29 et 3 (vide infra).

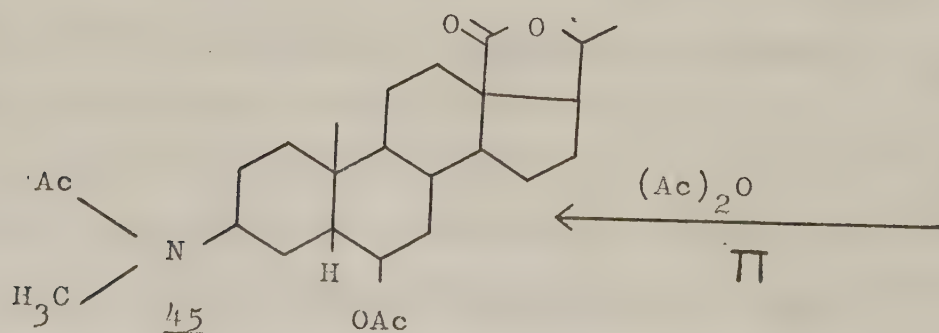
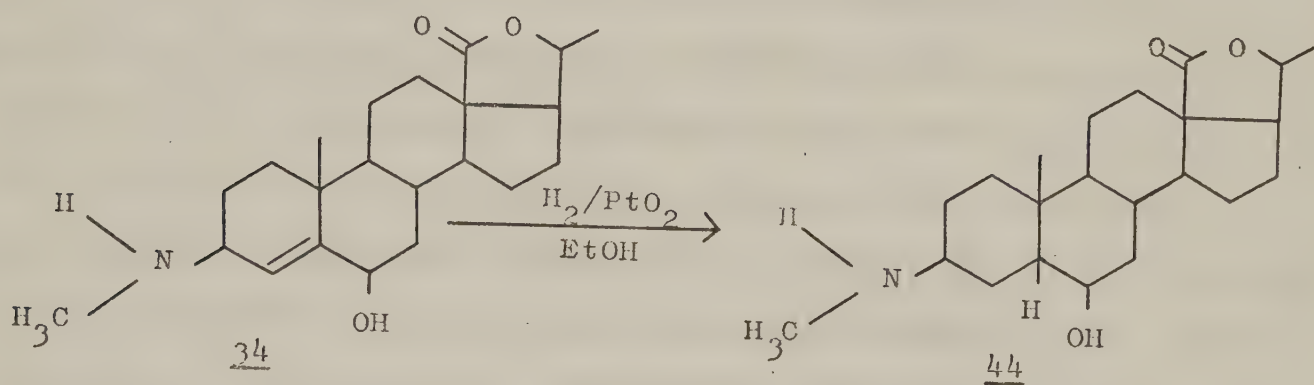
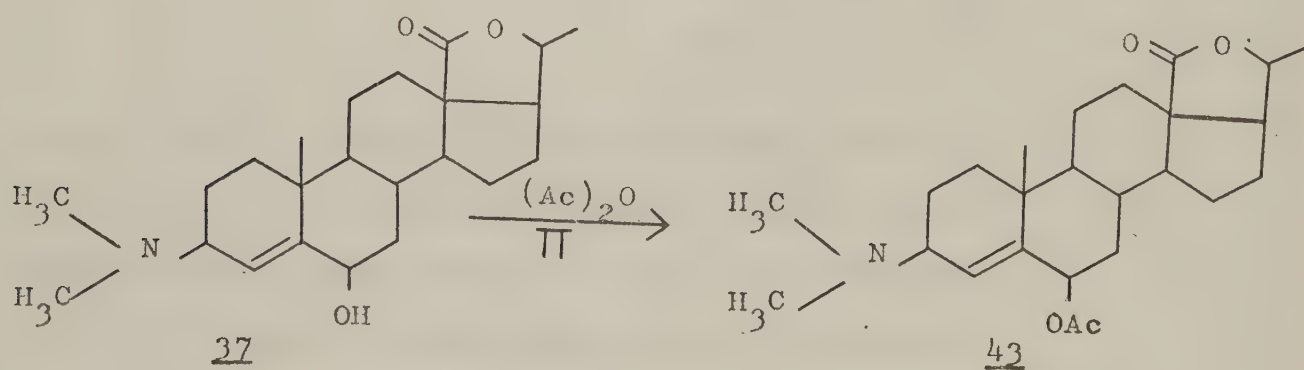
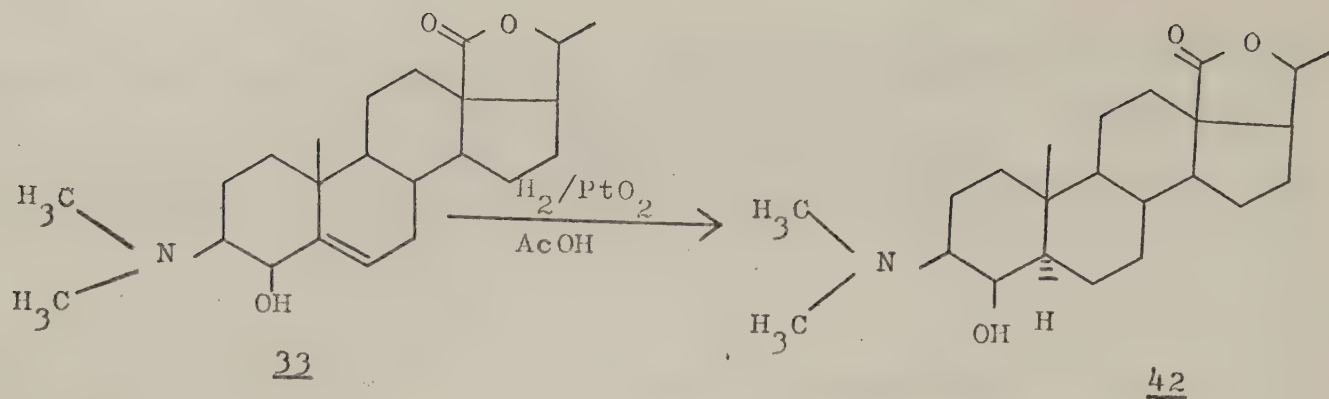
Il est intéressant de noter que les dérivés hydroxy-4 β prégnène-5, 30, 31, 32, et 33, isomères des hydroxy-6 β prégnène-4 présentent, dans leur spectre de masse, un pic à m/e (M-18), ce qui permet de les différencier immédiatement.

- Le spectre infrarouge de 37 montre une bande à 3.200 cm⁻¹ attribuée à un hydroxyle, lequel peut d'ailleurs être acétylé par l'anhydride acétique et la pyridine ($\longrightarrow$ composé 43).

- L'examen du spectre de résonance magnétique nucléaire de 37 montre un triplét centré sur 4,25 ppm, constituant la partie X d'un système ABX (31) du type :



D'autre part, à 5,58 ppm, résonne un seul proton vinylique sous forme d'un doublet ($J = 2,5$ cps). Ces résultats sont en accord avec un enchaînement hydroxy-6 Δ_4 . La configuration 6β peut être attribuée à cette fonction alcool secondaire. En effet, le proton adjacent à l'hydroxyle apparaît sous la forme d'un triplet résultant des couplages avec les deux protons en $C_{(7)}$. La faible largeur à mi-hauteur de ce signal (7 cps) traduit deux couplages équatorial-équatorial et équatorial-axial. L'hydrogène en $C_{(6)}$ est donc α (équatorial) et, par suite, la fonction alcool est β (axial). Cette configuration est confirmée par la mesure du déplacement chimique du méthyle 19 ($\delta = 1,30$ ppm) voisin de celui du dérivé hydroxy-4 $\beta\Delta_5$ 33, ($\delta = 1,27$ ppm). Or, il est permis de considérer que les substituants axiaux, portés par $C_{(4)}$ ou $C_{(6)}$ dans des composés ayant respectivement une double liaison en $C_{(5)}$ ou $C_{(4)}$ occupent une position équivalente par rapport au méthyle 19 et induisent donc un déplacement chimique voisin.



La position $C_{(6)}$ et la configuration 6β peuvent être confirmées par l'hydrogénation catalytique en milieu neutre de l'un de ces dérivés 34, qui conduit, principalement, au composé 44 (Tableau 9). Dans le spectrogramme de masse de 44, on note un pic intense à m/e 70 et un pic d'intensité plus faible à m/e 112. Ces résultats permettent de situer la fonction hydroxyle en $C_{(5)}$, $C_{(6)}$ ou $C_{(7)}$. L'acétylation de cette fonction (composé 45) élimine le cas d'un alcool tertiaire en $C_{(5)}$. Il ne s'agit pas non plus de l'un des composés naturels hydroxylés en $C_{(7)}$ AP_3 ou AP_4 que nous avons isolé au début de ce travail. La position $C_{(6)}$ pour la fonction hydroxyle reste donc la seule possible. Le calcul de l'incrément du ZÜRCHER (51) de cette fonction vis à vis du méthyle 19 conduit à une valeur uniquement compatible avec une configuration hydroxy- 6β dans la série du prégnane- 5β .

Il est généralement admis que, lors d'une hydrogénation catalytique, les facteurs stériques déterminent la direction selon laquelle les atomes d'hydrogène s'additionnent à la molécule. Cependant, les composés contenant des groupements coordinants peuvent contracter des liaisons avec le catalyseur et l'hydrogénation s'effectue alors sur la face où est située la fonction coordinante (32). Il n'est donc pas étonnant d'obtenir, dans le cas ci-dessus, un dérivé du prégnane- 5β . Des résultats identiques ont été observés dans la série du cholestène-4 diol- 3β , 6β (33) où l'hydrogénation catalytique

avec le platine donne exclusivement le cholestane-5 β diol-3 β , 6 β tandis que l'addition d'une trace d'acide chlorhydrique conduit surtout au dérivé du cholestane-5 α .

L'oxydation par l'anhydride sélénieux de la paravallarine 1 (1), qui diffère de 4 par la présence d'une fonction amine secondaire au lieu d'amine tertiaire, conduit à des résultats qualitativement identiques (dérivés 30, 34 et 38).

La mise en réaction de la N-méthylparavallaridine 29 (2a) ou hydroxy-16 α N-méthylparavallarine permet d'accéder à des molécules dihydroxylées 4 β , 16 α , 31 ou 6 β , 16 α 35.

La même réaction, pratiquée sur le système homoallylique diméthylamino-3 α Δ_5 de la kibataline 2 (2b) fournit des dérivés analogues à ceux isolés en série diméthylamino-3 β Δ_5 . On isole successivement les dérivés 32, 36 et 40.

La genèse des dérivés hydroxy-6 β Δ_4 peut s'expliquer par un réarrangement allylique à partir des dérivés hydroxy-4 β Δ_5 (34). Les diènes-4,6 proviennent vraisemblablement de la déshydratation acido-catalysée de l'un ou l'autre des alcools allyliques formés.

En conclusion, on peut dire que l'oxydation par l'anhydride sélénieux du système aminé 3 α ou 3 β Δ_5 s'effectue de la même façon quelle que soit la configuration de l'atome d'azote. Seules les proportions des trois produits de la réaction varient.

Aucun des produits obtenus n'a pu être identifié aux alcaloïdes mineurs du Paravallaris microphylla dont la structure reste à déterminer.

L'isolement de dérivés amino-3 α ou 3 β Δ_4 hydroxy-6 β a permis de mettre en évidence leur fragmentation originale en spectrométrie de masse. Un ion à m/e : (M-17) d'intensité au moins égale à celle du pic moléculaire les différencie aisément de leurs isomères 4 β Δ_5 .

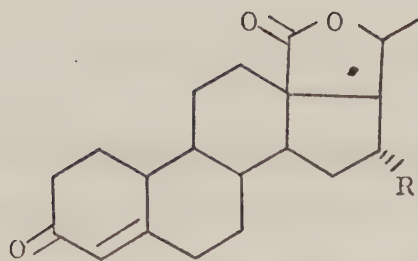
C - DERIVES CETONIQUES

IL était raisonnable de penser que les alcaloïdes stéroïdiques, en général, dérivent de précurseurs comportant des fonctions oxygénées en lieu et place des atomes d'azote ; il n'était pas exclu non plus que ces alcaloïdes stéroïdiques, une fois formés, puissent subir une désamination oxydative conduisant aux mêmes dérivés oxygénés. C'est dans cette optique que différents auteurs (6, 53, 54) ont entrepris la recherche de tels produits dans les plantes à alcaloïdes stéroïdiques :

TSCHESCHE et coll. (53) ont extrait l'holadysone des écorces de l'Holarrhena antidysenterica WALL ;

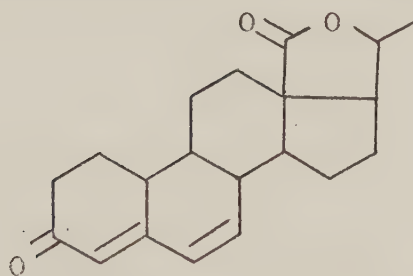
POTIER, KAN et LE MEN ont isolé trois cétones 46, 47 et 48 du Paravallaris microphylla ;

M. LEBOEUF, A. CAVE et R. GOUTAREL (54) ont mis en évidence la progestérone dans les feuilles d'Holarrhena floribunda.



46 : R = H

47 : R = OH



48

A la suite de ces travaux, BENNETT et Coll. (55, 56) ont prouvé les relations biogénétiques existant entre les dérivés cétoniques et les amines stéroïdiques.

Ayant poursuivi la recherche systématique de nouveaux dérivés cétoniques dans le Paravallaris microphylla, nous avons isolé trois nouvelles cétones dénommées CP₁, CP₂ et CP₃ dont les structures ont été établies à l'aide de leurs

propriétés spectrales et chimiques :

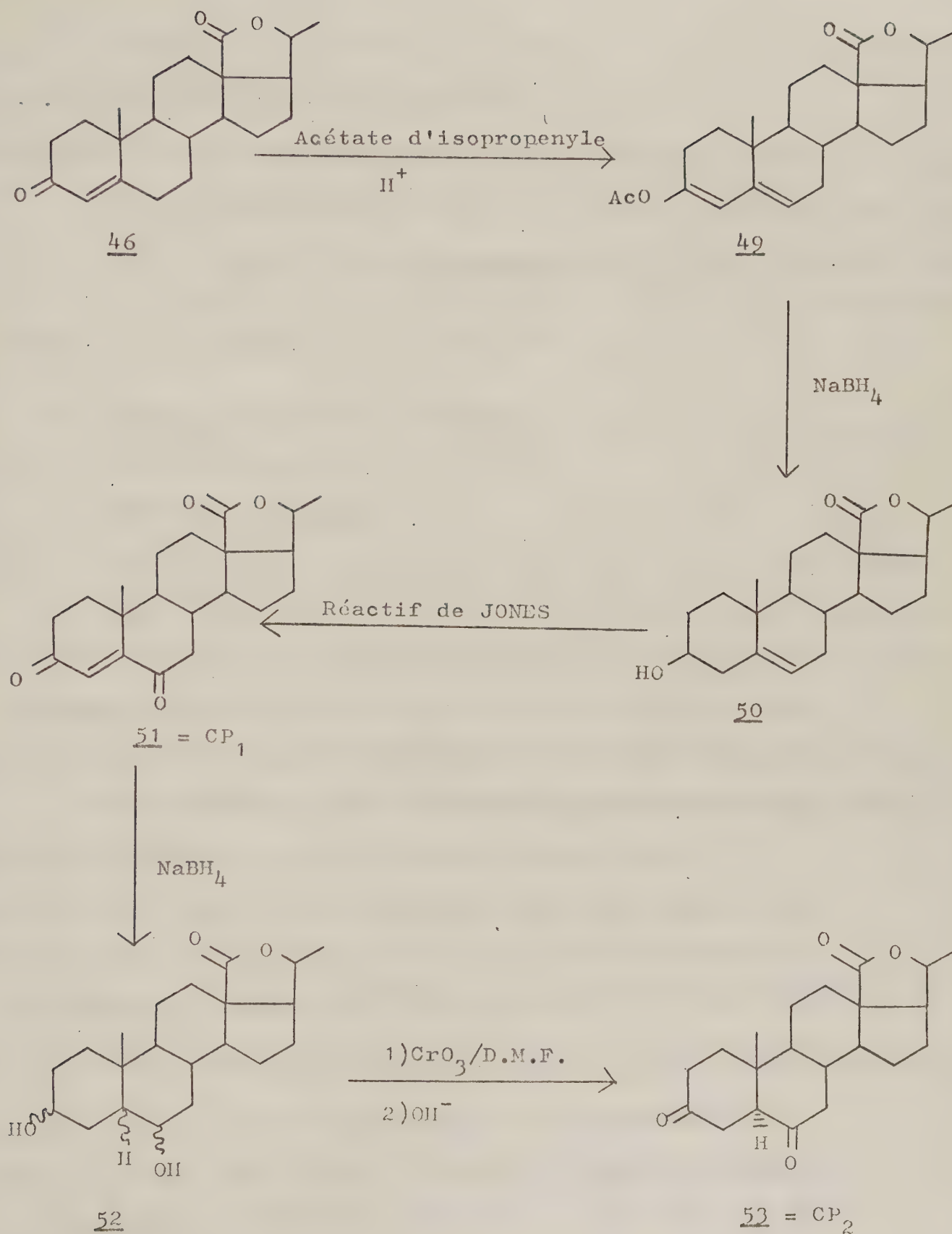
- CP₁ : Dicéto-3,6 hydroxy-20S oïque-18
lactone(→20) prégnène-4.
- CP₂ : Dicéto-3,6 hydroxy-20S oïque-18
lactone(→20) prégnane-5α.
- CP₃ : Céto-3 dihydroxy-11β, 20S oïque-18
lactone(→20) prégnadiène-1,4.

CETONE CP₁ F 259° ; $[\alpha]_D^{20} - 33,3^\circ$ 51 (Tableau 10)

Le dérivé cétonique CP₁ répond à l'analyse centésimale C₂₁H₂₆O₄ (spectrométrie de masse pic M⁺ à m/e 342). Dans le spectre infrarouge apparaissent des bandes à 1.750 cm⁻¹ (γ-lactone saturée) et 1.690, 1.680 et 1.615 cm⁻¹ (cétone α, insaturée). Le spectre ultraviolet dénote la présence d'une fonction éne dione du type semi-cisoïde (35) :

λ _{max} éthanol	milieu neutre	252mμ	ε 10.500
--------------------------	---------------	-------	----------

λ _{max} éthanol	milieu alcalin	263mμ	ε 16.100
		386mμ	ε 11.000



Le spectre de résonance magnétique nucléaire de CP₁ permet de classer cette cétone dans la série des dérivés du prégnane lactone 18 $\longrightarrow$ 20S. On identifie en effet :

CH₃(19) singulet à δ 1,24 ppm

CH₃(21) doublet à δ 1,38 ppm (J = 6,5 cps)

H en C₍₂₀₎ quadruplet dédoublé (22) centré sur
 δ 4,72 ppm ($J_{H20-H21} = 6,5$ cps ;
 $J'_{H20-H17} = 4,5$ cps)

Un proton oléfinique singulet à δ 6,21 ppm.

Toutes ces données spectrales (I.R., U.V. et R.M.N.) sont en accord avec une structure dicéto-3,6 hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-4 51. L'hémisynthèse du dérivé 51 montre son identité avec la cétone CP₁.

L'oxydation du cholestérol par le bichromate de sodium dans l'acide acétique conduit au cholestène-4 dione-3,6 avec un rendement de 42% (36). L'oxydation, selon JONES, en présence d'air permet d'obtenir, quantitativement, l'oxydation du système homoallylique OH-3 β Δ ₅ en dérivé dicéto-3,6 Δ ₄ (37).

L'acétate d'énol 49 obtenu à partir de la cétone 46 selon la méthode de DAUBEN et EASTHAM (44) conduit à l'alcool 50 par réduction à l'aide du borohydrure de sodium (45).

Finalement, l'oxydation de 50 par le réactif de JONES fournit la dicétone 51 identique à CP₁.

La réduction par le borohydrure de sodium de la cétone CP₁ 51 conduit aux diols 52 saturés en C₍₅₎ (spectrométrie de masse : pic M⁺ à m/e 348) qui sont oxydés (39) en la dicétone 53. La stabilité de cette cétone en milieu alcalin prouve que l'hydrogène en 5 est α.

CETONE CP₂ F 252° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 44^\circ$ 53 (Tableau 10)

La cétone CP₂ répond à la formule brute C₂₁H₂₈O₄ (spectrométrie de masse pic M⁺ à m/e 344). Le spectre infrarouge montre les bandes caractéristiques d'une γ - lactone à 1.750 cm⁻¹ et de cétones saturées sur des cycles à six atomes à 1.710 cm⁻¹.

Le spectre de résonance magnétique nucléaire présente les signaux caractéristiques de la série lactone-18 → 20S prégnane :

CH₃(19) singulet à δ 1,03 ppm

CH₃(21) doublet à δ 1,38 ppm (J = 6,5 cps)

H en C₍₂₀₎ quadruplet dédoublé (22) centré sur 4,74 ppm

$$J_{H20-H21} = 6,5 \text{ cps}$$

$$J'_{H20-H17} = 4,5 \text{ cps.}$$

Le spectre ultraviolet est caractéristique de cétones non conjuguées ($\lambda_{\text{max}}^{\text{éthanol}} 286\text{m}\mu$: ϵ 48).

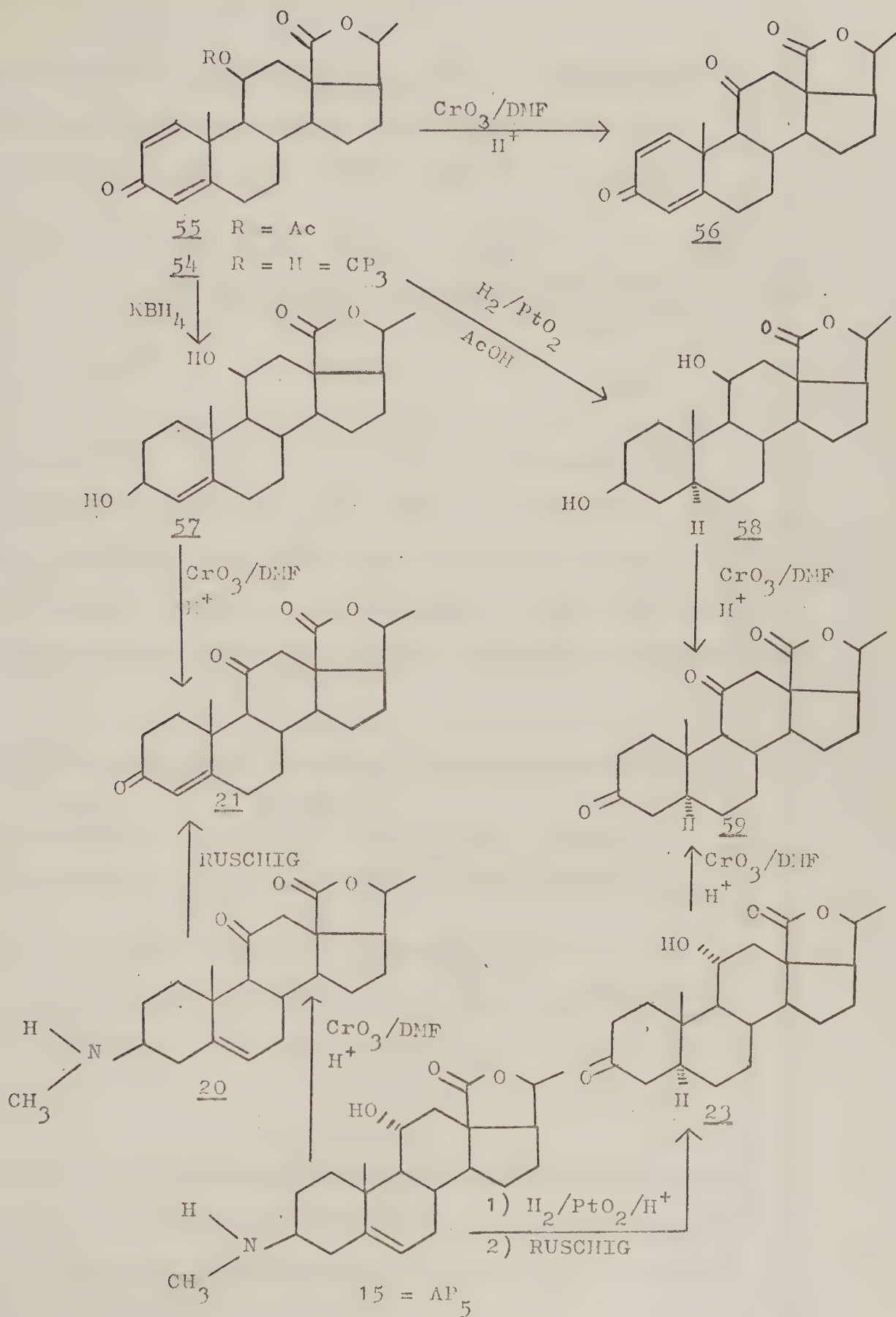
Ces données spectrales permettent d'identifier la cétone CP_2 au dérivé 53 obtenu à partir de la cétone CP_1 51 (vide supra). La cétone CP_2 est donc le céto-3,6 hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5a ou dérivé dihydro de la cétone CP_1 .

CETONE CP_3 F 280° ; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 79,2^\circ$ 54 (Tableau 11)

La cétone CP_3 répond à la formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$. Ses propriétés spectrales et chimiques permettent de lui attribuer la structure : céto-3 dihydroxy-11 β , 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ prégnadiène-1,4 54).

La fonction céto-3 diène-1,4 est mise en évidence par :

- le spectre infrarouge de la cétone CP_3 elle-même et de ses dérivés 55 et 56 (bandes à 1.665, 1.610 et 1.590 cm^{-1});
- Le spectre ultraviolet du composé 56, seul soluble dans l'éthanol: ($\lambda_{\text{max}}^{\text{éthanol}} 242\text{m}\mu$, ϵ 14.800) ;
- le spectre de masse de la cétone CP_3 dans lequel on note la présence de pics à m/e 121 et 122 dus à la fragmentation allylique du cycle B (40) ;



- le spectre de résonance magnétique nucléaire du composé 56 (Figure 4), obtenu par oxydation chromique selon SNATZKE (39) de CP_3 , dans lequel on note :

H en $C_{(1)}$ doublet à δ 7,75 ppm ($J_{1,2} = 10$ cps)

H en $C_{(2)}$ quadruplet à δ 6,14 ppm $\left\{ \begin{array}{l} J_{1,2} = 10 \text{ cps} \\ J'_{2,4} = 2 \text{ cps} \end{array} \right\}$

H en $C_{(4)}$ singulet large à δ 6,06 ppm ($J_{2,4} = 2$ cps)

Le déblindage du proton en $C_{(1)}$ est significatif de sa position γ par rapport à la fonction carbonyle en $C_{(11)}$ et de sa position dans le plan de ce groupement. Un tel déplacement paramagnétique a déjà été observé en série androstane-5 α one-11 (41).

La fonction lactone 18, 20S est caractérisée par :

- le spectre infrarouge de différents dérivés (CP_3 , 55 et 56) où l'on observe une bande à 1.745 cm^{-1} .
- le spectre de résonance magnétique nucléaire (figure 4) de 56 dans lequel l'aspect du proton en $C_{(20)}$ à δ 4,65 ppm est significatif de la stéréochimie 20S (22).

La position de la fonction hydroxyle est prouvée par l'obtention de la cétone 56 (infrarouge : $\checkmark C = O : 1.710 \text{ cm}^{-1}$) dont la présence provoque le déblindage du proton en $C_{(1)}$ (vide supra).

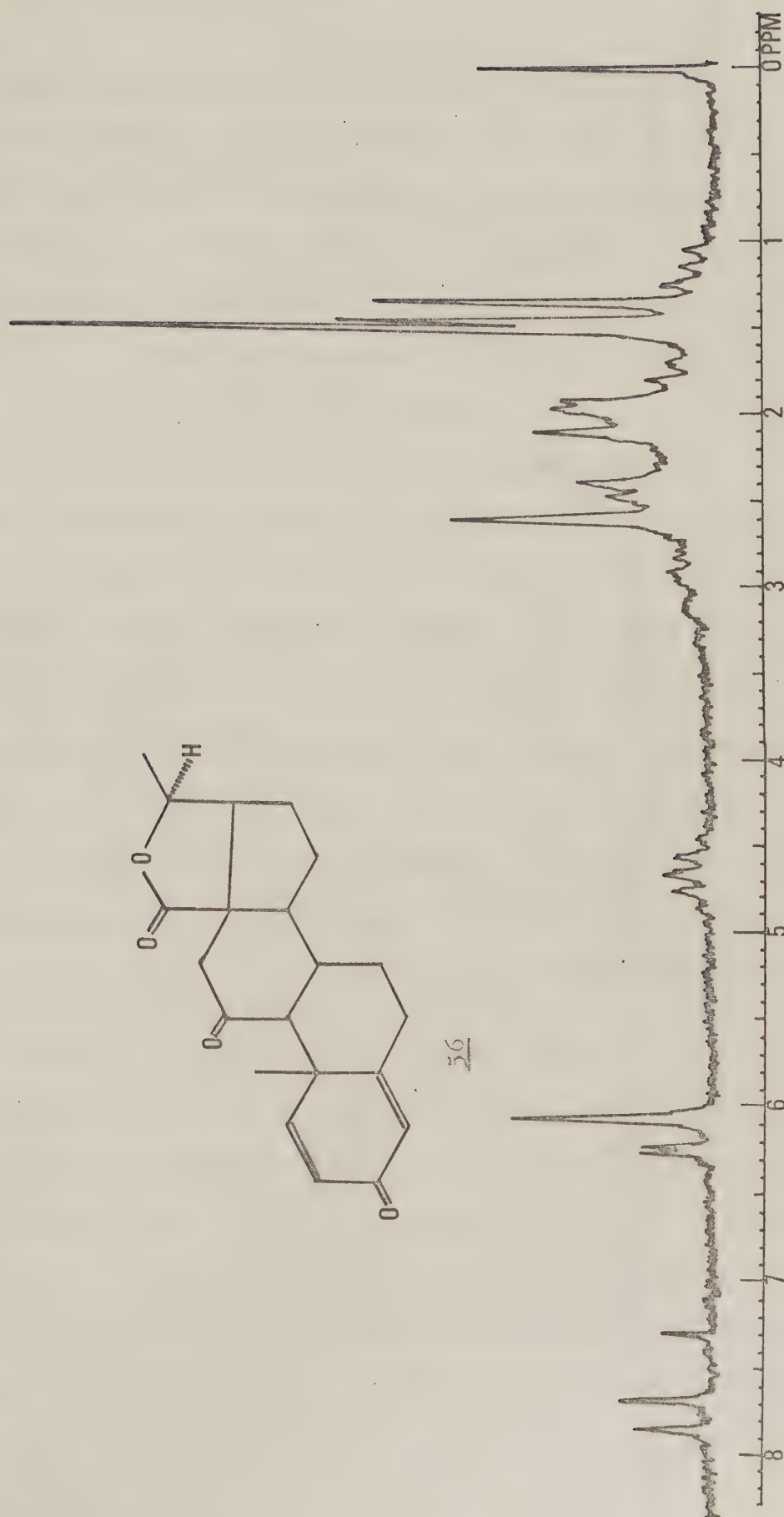


FIGURE 4

La stéréochimie de la fonction hydroxyle (infrarouge $\nu_{OH} = 3.360 \text{ cm}^{-1}$) est déduite de l'examen du spectre de résonance magnétique nucléaire du dérivé O-acétylé 55 (Figure Le proton jouxtant la fonction O-acétyle apparaît à 5,35 ppm sous forme d'un multiplet identique à celui observé en série céto-3 Δ_4 acétoxy-11 β androstane (42).

Deux corrélations chimiques permettent finalement de fixer avec certitude la structure stéroïdique de la cétone CP₃. La réduction de la fonction diénonique par le borohydrure de potassium (40) permet d'obtenir l'alcool allylique 57 dont l'oxydation conduit à la cétone α, β insaturée 21 (21) obtenue également à partir de l'alcaloïde AP₅ 15 (vide supra). La saturation de la fonction diénonique par l'hydrogène en présence de platine dans l'acide acétique (40) conduit au diol 3 β , 11 β oxydable en la dicétone 59 identique à celle obtenue à partir de l'alcaloïde AP₅ 15 (vide supra).

L'existence d'un produit naturel portant une fonction alcool 11 β en série lactone 18, 20S est remarquable car un tel dérivé ne peut être obtenu chimiquement par réduction du dérivé céto-11 correspondant (20,21) qui conduit à la lactone 18 $\longrightarrow$ 11 β hydroxy 20S par isomérisation de la lactone au cours de la réaction. Dans le cas du dérivé CP₃ l'isomérisation de la lactone n'a pas été possible par ouverture de la

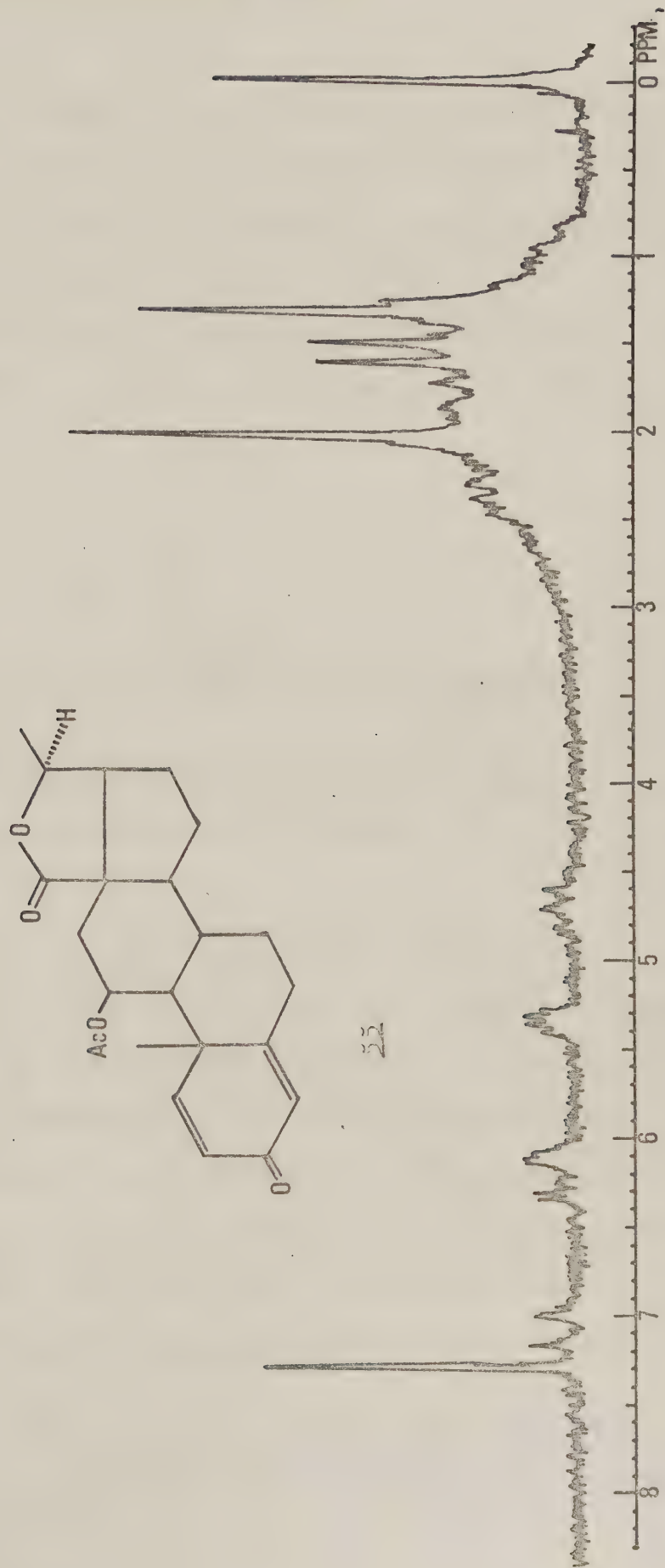


FIGURE 5

fonction lactone en milieu alcalin suivie d'une lactonisation en milieu acide. Le dérivé CP_3 est récupéré inchangé après ce traitement. L'isomérisation de la lactone 18, 20S en lactone 18 $\longrightarrow$ 11 β ne semble donc pouvoir être obtenu que par attaque de la lactone 18, 20S dans l'état intermédiaire au cours de la réduction du dérivé céto-11 par le borohydrure de sodium.

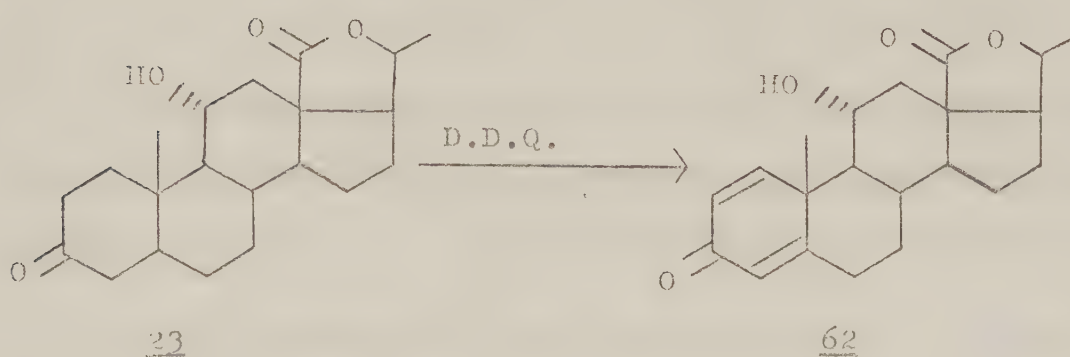
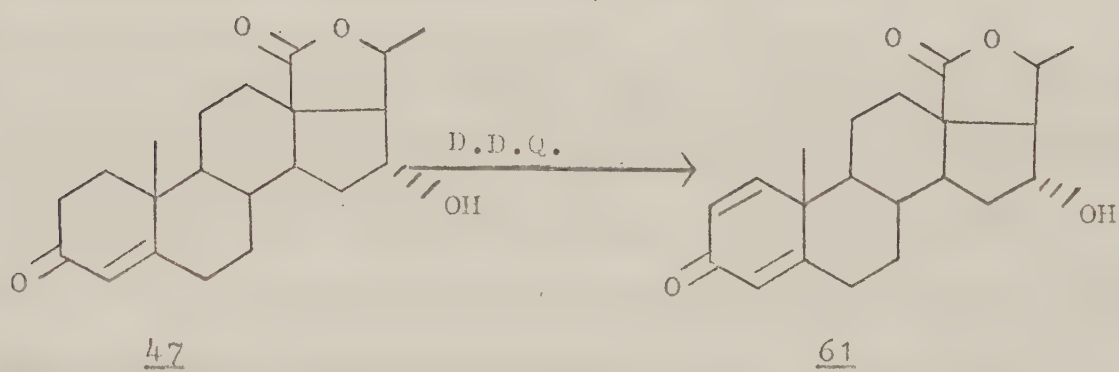
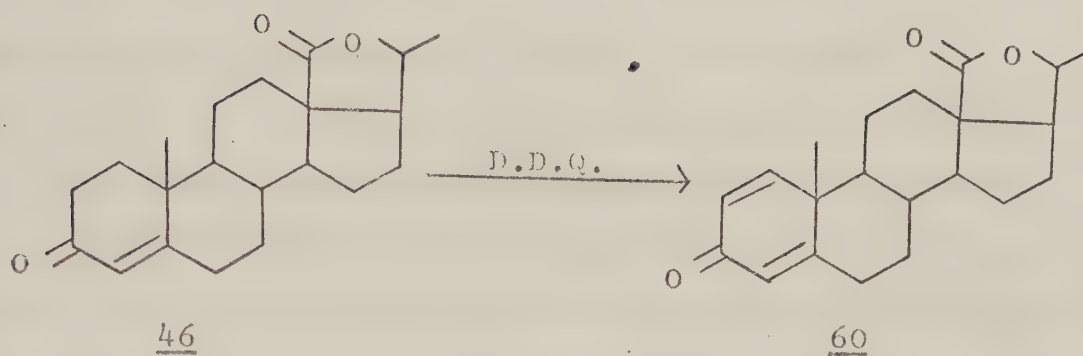
PREPARATIONS DE DERIVES DIENONIQUES 1,4

EN SERIE LACTONE 18, 20S PREGNANE

(Tableau 12) 60, 61 et 62

L'isolement de la diénone CP_3 54 du Paravallaris microphylla permettait de penser que les diénones 1,4 60 et 61 correspondant aux dérivés cétoniques 46 et 47 et aux alcaloïdes 1 et 2 majoritaires, existaient également dans la plante. Aucune cétone isolée ne répondant aux structures 60 et 61, l'hémisynthèse de ces dérivés a été réalisée afin de pouvoir, éventuellement, les identifier dans les différents extraits cétoniques du Paravallaris microphylla.

Le dérivé 62 épimère 11a de la cétone CP_3 54 a été également préparé à des fins identiques.



BURN et al. (52) ont introduit la double liaison 1-2 sur le céto-3 Δ_4 stéroïdes au moyen de la dichloro-5,6 dicyano-2,3 benzoquinone (D.D.Q.) en utilisant de 1,1 à 1,5 mo du réactif. En appliquant cette réaction au dérivé céto-3 Δ_4 46 et 47 les diénones -1,4 60 et 61 ont pu être obtenues. Aucune de ces cétones ne se trouve dans les extraits cétoniques du Paravallaris microphylla. *

MULLER et al. (48) ont constaté qu'il était possible, en utilisant une quantité double de D.D.Q., de former, simultanément, les deux doubles liaisons Δ_1 et Δ_4 à partir d'un céto-3 stéroïde quelle que soit la configuration au niveau du carbone 5. Cette réaction pratiquée sur le céto-3 dihydroxy-11 α -20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5 α 23 a conduit à l'isolement de la diénone-1,4 62. Ce composé est isomère de la cétone naturelle CP₃ 54 et en diffère uniquement par l'orientation du groupement hydroxyle. Tandisque. l'hydroxyle se trouve α dans le cas de composé 62 il se trouve β dans la cétone 54. Les spectres de masse de ces deux composés sont entièrement superposables.

* Il est possible que ces diénones soient tout de même présentes parmi les cétones contenues dans Paravallaris microphylla mais qu'elles aient subi une transposition diénone-phénol au cours des traitements d'extraction.(57)

PARTIE EXPERIMENTALE

Sauf indication contraire, tous les points de fusion sont pris en tube capillaire et sont corrigés.

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés en solution dans le chloroforme renfermant 0,5% d'éthanol, au moyen du Quick-polarimètre JOUAN-ROUSSEL pour la raie D du sodium.

Les chromatographies sur couche mince sont exécutées sur Kieselgel - G, selon STAHL.

Les microanalyses ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles

Sauf indication contraire, les spectres infrarouge ont été mesurés dans le nujol avec un spectromètre PERKIN-ELMER type 257.

Les spectres de masse sont déterminés sur appareils CH 4 ou MS 9.

Les spectres de R.M.N. sont enregistrés avec le spectromètre VARIAN A 60 en solution dans le deutérochloroforme avec le tétraméthylsilane comme indicateur interne ($\delta = 0$).

1) EXTRACTION DES ALCALOÏDES

56 Kg de feuilles de Paravallaris microphylla séchées et réduites en poudre ont été extraits à l'échelon pilote suivant le procédé donné dans la partie théorique.

Les 570 g de bases brutes obtenues sont traitées selon le schéma 1.

Chromatographie de la fraction soluble à froid dans le cyclohexane : alcaloïdes AP₁₋₃ et AP₂₋₄

20 g de cette fraction en solution dans le mélange hexane - benzène (50-50) ont été chromatographiés sur 600 g d'alumine standardisée (activité II - III) :

- les fractions éluées par le mélange benzène - hexane (50-50) sont réunies et cristallisées dans l'hexane. On obtient 550 mg de l'alcaloïde AP₁₋₃ identifié à la kibataline :

F 171° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 42^\circ$ (C : 1,4)

analyse : C₂₃H₃₅O₂N calc. % C 77,76 H 9,87 N 3,9
Tr. 77,08 9,98 3,9

- les fractions éluées par le mélange benzène - hexane (60-40) fournissent, après cristallisation dans le mélange hexane - benzène (80-20), 350 mg de l'alcaloïde AP₂₋₄ :

F 140° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 37^\circ$ (C : 0,50).

analyse : C₂₃H₃₅O₂N Calc. % 77,26 H 9,87 N 3,92
Tr. 77,12 9,99 4,02

- Les fractions éluées par l'éther fournissent, après cristallisation, 6,5 g de paravallarine 1 (1) :

F 184° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 52^\circ$ (C : 0,52).

Chromatographie des eaux-mères de cristallisation de la
fraction insoluble dans le cyclohexane : alcaloïdes AP₃-5,
AP₄-10, AP₅-15 et AP₆-17.

20 g de ce résidu en solution benzénique ont été chromatographiés sur 600 g d'alumine standardisée (activité II - III).

- Les fractions éluées par le mélange benzène - chloroforme (40-60) fournissent, après cristallisation dans l'acétone, 5,5 g de paravallaridine 2 pure :

F 231° : $\left[\alpha \right]_D^{20} - 48^\circ$ (C : 0,62).

- Les fractions éluées par le mélange benzène - chloroforme (20-80) représentent 5,4 g et contiennent les alcaloïdes AP₃ et AP₄ souillés de paravallaridine 2 et d'autres alcaloïdes non identifiés. Les alcaloïdes AP₃ et AP₄ seront séparés ultérieurement de ce mélange.

- Les fractions éluées par le mélange benzène - chloroforme (10-90) permettent d'isoler, après cristallisation dans le mélange acétate d'éthyle - méthanol (50-50), 70 mg de l'alcaloïde AP₅ 15 :

F 235° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 55^\circ$ (C : 0,72).

analyse : C₂₃H₃₃O₃N Calc. % 73,50 H 9,25 N 3,90
Tr. 73,44 9,29 4,01.

- Les fractions éluées par le mélange chloroforme - méthanol (99-1) sont réunies. Trois cristallisations successives dans l'acétone permettent d'isoler 14 mg de l'alcaloïde AP₆ 17 pur :

F 230° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 25^\circ$ (C : 0,38).

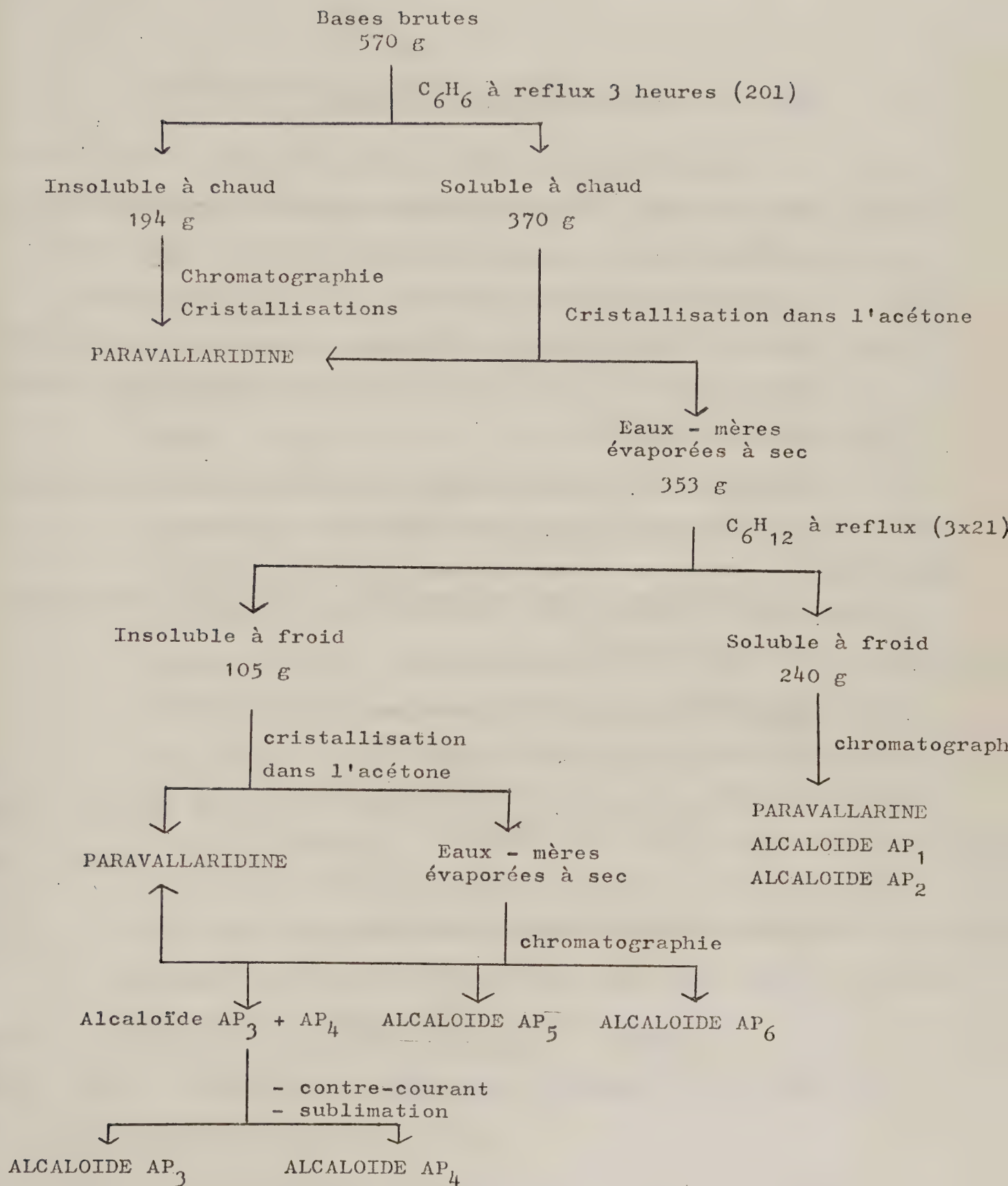
analyse : C₂₂H₃₅O₃N Calc. % C 73,09 H 9,76 N 3,87
Tr. 73,27 9,53 4,05

Spectre de masse : pics à m/e 361 (M⁺)

m/e 70

m/e 96

Spectre infrarouge : 3.240 cm⁻¹ (-NH) ;
3.120 cm⁻¹ (-OH) ;
1.755 cm⁻¹ (γ - lactone).



Séparation des alcaloïdes AP₃ et AP₄

Les fractions riches en alcaloïdes AP₃ et AP₄ (5,4 g) sont purifiées par contre-courant. La phase supérieure est constituée par un tampon acétique/ammoniaque à pH 4,9 et la phase inférieure par du chlorure de méthylène. Après 200 transferts de phase supérieure, on extrait les différents tubes et vérifie leur contenu par chromatographie sur couche mince de silice :

Tubes 1 - 16 : paravallaridine et alcaloïdes moins polaires.

Tubes 17- 95 : mélange des alcaloïdes AP₃ et AP₄.

1,5 g du mélange des alcaloïdes AP₃ et AP₄ est sublimé sous vide (0,05 mm Hg) :

à 180° l'alcaloïde AP₄ 10 sublime :

F 210° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 14^\circ$ (C : 0,55).

analyse : C₂₂H₃₃O₃N Calc. % C 73,50 H 9,25 N 3,90
Tr. 73,26 9,34 3,69

à 190° l'alcaloïde AP₃ 5 sublime :

F 213° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 113^\circ$ (C : 0,27).

analyse : C₂₂H₃₃O₃N Calc. % C 73,50 H 9,25 N 3,90
Tr. 72,95 9,31 3,85

2) EXTRACTION DES DERIVES CETONIQUES

Ces dérivés ont été obtenus par traitement de 5 Kg de résidus "éther - oxalique" provenant de la phase éthérée épuisée par une solution aqueuse d'acide oxalique lors de l'extraction des alcaloïde effectuée précédemment sur 56 Kg de feuilles de Paravallaris microphylla. Le résidu "éther - oxalique" est mis en solution dans 25 litres de mélange butanol - benzène (80-20) à reflux. Après une heure, la solution chaude est filtrée pour éliminer un insoluble. Le filtrat est lavé quatre fois avec 5 litres d'eau. A la phase organique lavée (environ 25 litres) on ajoute 1 litre d'acide acétique et 150 g de réactif T de GIRARD et SANDULESCO. Le mélange est porté à reflux pendant deux heures sous atmosphère d'azote. La phase organique refroidie est ensuite épuisée par 15 litres d'eau. La phase aqueuse est neutralisée par de la lessive de soude puis lavée trois fois par 5 litres de benzène. Finalement, on ajoute à la phase aqueuse une quantité suffisante d'acide sulfurique pour obtenir un pH de 1,5. Le milieu acide est alors extrait successivement par 50 litres de benzène et 15 litres de chloroforme. Les phases organiques sont lavées, séchées puis distillées.

L'extrait benzénique se présente sous forme d'un extrait mou pesant 17,5 g.

L'extrait chloroformique est sec et pèse 11 g.

Séparation des cétones 51, 53 et 54

Les extraits benzéniques et chloroformiques réunis (28, 5g) sont dissous dans 300 cm³ de benzène. Un insoluble de 5,1 g est éliminé par filtration. Le filtrat est chromatographié sur 1,2 Kg d'alumine (activité II - III).

- Les fractions éluées par le benzène sont constituées par des graisses.

- Les fractions éluées par le mélange benzène - éther, puis par l'éther, sont réunies (1,53 g) et des cristallisations fractionnées dans le mélange acétone - hexane (50-50) permettent de séparer à l'état pur 200 mg du dérivé cétonique 46 et 125 mg du dérivé cétonique 48 isolés précédemment (6).

- Les fractions éluées par le mélange éther - éthanol (99-1) sont réunies (3,31 g) et cristallisées dans l'acétone - hexane (50-50). On obtient un premier jet de 113 mg de cétone CP₂ 53 :

F 252° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 44^\circ$ (C : 0,16).

analyse : C₂₁H₂₈O₄ Calc. % C 73,22 H 8,19

Tr. 73,17 8,18

Les eaux-mères de cristallisation sont chromatographiées sur alumine (activité II - III) selon la technique habituelle. Après cristallisation dans l'acétone des fractions

homogènes en chromatographie sur couche mince on obtient
120 mg de la cétone CP₁ 51 :

$$F \ 259^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 33^{\circ} \ (C : 0,57) .$$

analyse : C₂₁H₂₆O₄ Calc. % C 73,66 H 7,66
Tr. 73,47 7,55

- Les fractions éluées par le mélange éther - éthanol
(95-5) et (90-10) sont réunies (2,90 g). Par cristallisation
dans l'acétone, on isole un premier jet de 300 mg constitué
par la cétone CP₃ 54 pure :

$$F \ 280^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 79^{\circ} \ (C : 0,24) .$$

analyse : C₂₁H₂₆O₄ Calc. % C 73,66 H 7,66
Tr. 73,80 7,48

3) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 7 α , 20S
OLIQUE - 18 LACTONE (→20) PREGNENE - 5 6

a) Par N-acétylation de l'alcaloïde AP₃ 5

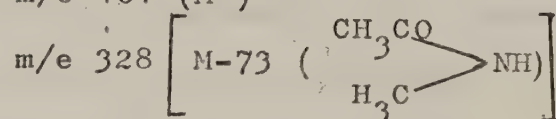
A 50 mg d'alcaloïde AP₃ 5 sont ajoutés 5 cm³ d'anhy-
dride acétique et 1 cm³ de méthanol. Après séjour à la
température ordinaire pendant 20 heures, le mélange réac-
tionnel est noyé par de l'eau distillée, alcalinisé par de
la lessive de soude et extrait par du chloroforme. On obtient

59 mg de produit 6 qui cristallise dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

F 226° ; $[\alpha]_D^{20} - 93^\circ$ (C : 0,66).

analyse : C₂₄H₃₅O₄N Calc. % 71,79 H 8,79 N 3,49
Tr. 71,69 8,81 3,29

Spectre de masse : pics à m/e 401 (M⁺)



Spectre infrarouge : 1.755 cm⁻¹ (γ-lactone) ;
1.630 cm⁻¹ (N - acétyle).

b) Par réduction de 8 par NaBH₄

A 2,30 g du dérivé 8 en solution dans 125 cm³ de méthanol bouillant on ajoute, par petites portions, 2,30 g de NaBH₄. Le reflux est maintenu pendant 3 heures à partir du début de l'addition de NaBH₄. Le mélange réactionnel est ensuite dilué par de l'eau distillée et extrait par du chloroforme. Le produit brut obtenu (2,33 g) est mis en solution dans le benzène et chromatographié sur 115 g d'alumine (activité II - III).

- Les fractions éluées par le mélange benzène - chloroforme (50-50) sont rassemblées. Une cristallisation dans l'acétone fournit 980 mg du dérivé 11.

- Les fractions éluées par le mélange benzène - chloroforme (30-70) fournissent 250 mg de produit brut. Une cristallisation dans l'acétone donne deux types de cristaux en mélange. Une séparation manuelle de ces cristaux permet d'isoler :

47 mg de cristaux transparents identiques à 11.

93 mg de cristaux opaques identiques à 6.

4) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β O - ACETYL - 7 α
HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20) PREGNENE - 5 7

30 mg de l'alcaloïde 6 sont acétylés par le mélange anhydride acétique - pyridine (1-1) pendant 24 heures à la température du laboratoire. Le milieu réactionnel, dilué par de l'eau contenant 5% de bicarbonate de sodium, est extrait par du chloroforme. Le produit brut (34 mg) cristallise dans le mélange hexane - acétone (1-1) :

F 197° ; $[\alpha]_D^{20} = 173^\circ$ (C : 0,73).

analyse :	C ₂₆ H ₃₇ O ₅ N	Calc. %	C 70,40	H 8,41	N 3,16
	Tr.		70,17	8,45	3,18

ratoire. Le milieu réactionnel est ensuite versé dans 100 cm³ d'eau alcalinisée par de l'ammoniaque et extrait par de l'éther. Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution de soude à 1% puis à l'eau distillée. Après séchage et distillation de l'éther, on obtient 18 mg de produit brut qui cristallise dans le méthanol :

c) Par oxydation du dérivé 11 selon SNATZKE (39) : selon la technique utilisée en b)

6) METHYLAMINO - 3 β TRIFLUOROACETYLAMINO - 3 β HYDROXY - 20S OÏQUE - 18 LACTONE (→ 20) PREGNENE - 5 14

A une solution, refroidie à 0°, de 2 g de paravallarine 1 dans la pyridine, on ajoute 5 cm³ d'anhydride trifluoroacétique. On abandonne 5 heures à la température du laboratoire et dilue ensuite le milieu réactionnel avec une solution aqueuse à 5% de bicarbonate de sodium. L'extraction par du chloroforme donne 2,2 g de dérivé 14. Un échantillon pour analyse est cristallisé dans l'acétone :

F 253° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 70^\circ$ (C : 1,30).

analyse : C ₂₄ H ₃₂ O ₃ F ₃	Calc. %	C 65,60	H 7,28	N 3,18
Tr.		65,51	7,28	3,55

7) METHYLAMINO - 3 β TRIFLUOROACETYLAMINO - 3 β CETO - 7
HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20) PREGNENE - 5

2 g de trifluoroacétylaminoparavallarine 14 sont oxydés par le chromate de sodium selon la technique de 5)a). On obtient 1,73 g de produit brut qui cristallise dans l'acétone :

$$F \ 253^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 70^{\circ} \quad (C : 1,29) .$$

analyse : $C_{24}H_{30}O_4NF_3$ Calc. % C 63,57 H 6,62 N 3,0
 Tr. 63,50 6,56 3,4

Spectre infrarouge : 1.750 cm^{-1} (γ -lactone) ;
 1.670 cm^{-1} (C = O) ;
 1.640 cm^{-1} (C = C).

8) HEMI-SYNTHESE DES ALCALOIDES AP₃ 5 ET AP₄ 10 PAR REDUCTION
AU BOROHYDRURE DE SODIUM DE 2

1,53 g du dérivé 2 est réduit par le borohydrure de sodium selon la technique 3)b). La séparation des épimères est effectuée par cristallisation dans l'acétone et séparation manuelle des deux types de cristaux qui apparaissent. Les deux dérivés obtenus sont identiques aux alcools naturels AP₃ et AP₄.

9) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 7 β , 20S
OIQUE - 18 LACTONE (—>20) PREGNENE - 5 11

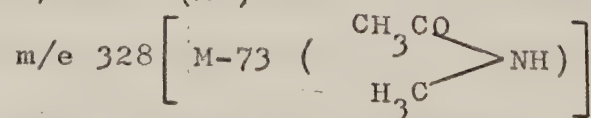
a) Par acétylation de 10

480 mg de l'alcaloïde AP₄ 10 sont acétylés selon la technique de 3)a). On obtient ainsi 492 mg de produit brut qui est chromatographié sur alumine (activité II - III). Les fractions éluées par du benzène contenant des quantités croissantes de chloroforme (de 95-5 à 70-30) sont réunies : on obtient 163 mg de produit pur qui cristallise dans l'acétone :

F 254° ; $[\alpha]_D^{20} - 17^\circ$ (C : 0,98).

analyse : C₂₄H₃₅O₄N Calc. % C 71,79 H 8,79 N 3,49
 Tr. 71,37 8,90 3,17

Spectre de masse : Pics à m/e 401 (M⁺)



Spectre infrarouge : 1.750 cm⁻¹ (γ-lactone) ;
 1.620 cm⁻¹ (N-acétyle).

b) Par réduction avec le borohydrure de sodium de 8 : selon la méthode décrite en 3)b).

- 10) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β O - ACETYL - 7 β
HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20) PREGNENE - 5

80 mg de la N-acétyl hydroxy-7 β paravallarine 11
 sont soumis à l'acétylation selon la technique de 4). On
 obtient 90 mg de produit brut qui cristallise dans l'acétone :

$$F \ 227^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} + 29^{\circ} \quad (c : 0,21).$$

analyse : $C_{26}H_{37}O_5N$ Calc. % C 70,40 H 8,41 N 3,16
 Tr. 70,21 8,29 2,76

Spectre infrarouge : 1.745 cm^{-1} (γ -lactone) ;
 1.725 cm^{-1} (O-acétyle) ;
 1.630 cm^{-1} (N-acétyle).

- 11) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β HYDROXY - 20S
OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20) PREGNENE - 5 13

La préparation de 13 à partir de paravallarine 1
 a été décrite par LE MEN (1).

- 12) DIMETHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 11 α , 20S OIQUE - 18
LACTONE (—→ 20) PREGNENE - 5 16

100 mg d'alcaloïde AP₅ 15 sont méthylés selon la
 méthode d'ESCHWEILER - CLARKE (18). L'alcaloïde est dissous
 dans le mélange formol/acide formique (1-1) et la solution
 est portée à 100° pendant 5 heures. Le milieu réactionnel

est ensuite alcalinisé par de la lessive de soude et extrait par du chloroforme. Le produit brut (105 mg) cristallise dans l'acétone :

$$F \ 186^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 53^{\circ} \quad (C : 0,72).$$

$$\text{analyse : } C_{23}H_{35}O_3N \quad \text{Calc. \%} \quad \begin{array}{lll} C & 73,95 & H \ 9,45 \quad N \ 3,75 \\ \text{Tr.} & 74,10 & 9,04 \quad 3,70 \end{array}$$

Spectre de masse : Pics à m/e 373 (M^+)

m/e 84 (pic de base).

13) METHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 11 α , 20S OIQUE - 18

LACTONE (→ 20) PREGNANE - 5 α 17

(Hémi-synthèse de l'alcaloïde AP₆)

20 mg de l'alcaloïde AP₅ 15 en solution dans 15 cm³ d'acide acétique, sont hydrogénés à pression et température ordinaires en présence de 10 mg d'oxyde de platine Adams. Après filtration du catalyseur, le milieu réactionnel est dilué par de l'eau distillée et alcalinisé à l'aide de lessive de soude. L'extraction par du chloroforme fournit 19 mg de produit brut qui cristallise dans l'acétone et est identique à l'alcaloïde naturel AP₆ :

$$F \ 230^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 25^{\circ} \quad (C : 0,38).$$

14) DIMETHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 11 α , 20S OIQUE - 18
LACTONE (→ 20) PREGNANE - 5 α 18

a) Par méthylation de l'alcaloïde AP₆ 17 selon ESCHWEILER-CLARKE (18)

100 mg d'alcaloïde AP₆ 17 sont méthylés selon la technique de 12). Le produit brut fournit par cristallisation dans l'acétone 50 mg du dérivé 18 :

F 213° ; $[\alpha]_D^{20} - 26^\circ$ (C : 0,53).

Analyse : C₂₃H₃₇O₃N Calc. % C 73,56 H 9,93 N 3,72
 Tr. 73,43 10,04 3,59

b) Par hydrogénation du dérivé 16

50 mg du dérivé 16 sont hydrogénés selon la technique de 13). On obtient 48 mg de produit brut qui cristallise dans l'acétone et est identique au dérivé obtenu en a).

15) DIMETHYLAMINO - 3 β O - ACETYL - 11 α HYDROXY - 20S
OIQUE - 18 LACTONE (→ 20) PREGNANE - 5 α 19

57 mg du dérivé 18 sont acétylés selon la technique de 4). Le produit est cristallisé dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

F 167° . $[\alpha]_D^{20} - 18^\circ$ (C : 0,36).

analyse : C₂₅H₃₉O₄N Calc. % C 71,89 H 9,41 N 3,36
 Tr. 72,35 9,61 2,93

Spectre de masse : Pics à m/e 417 (M^+)

m/e 110

m/e 84 (pic de base).

16) METHYLAMINO - 3 β CETO - 11 HYDROXY - 20S OIQUE - 18
LACTONE (—→20) PREGNENE - 5 20

100 mg de l'alcaloïde AP₅ 15 sont oxydés selon la technique de 5)b). On obtient la cétone 20 qui cristallise dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

F 184-185° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 50^\circ$ (C : 0,50).

analyse : C₂₂H₃₁O₃N Calc. % C 73,91 H 8,74 N 3,92
 Tr. 73,67 8,61 3,95

Spectre de masse : Pics à m/e 357 (M^+)

m/e 70 (pic de base)

Spectre infrarouge : 1.705 cm⁻¹ (cétone sur un cycle à six).

17) DICETO - 3, 11 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20)
PREGNENE - 4 21

a) Par désamination de 20 selon RUSCHIG (49)

150 mg de céto-11 paravallarine 20 sont dissous dans 10 cm³ de chlorure de méthylène ; on y ajoute peu à peu et en agitant 20 mg de N-chlorosuccinimide à la température du

Le produit obtenu est identique à 21.

18) CETO - 3 DIHYDROXY - 11 α , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)

PREGNANE - 5a 23

a) Par désamination du dérivé 17 selon RUSCHIG (49)

- 88 mg du dérivé 17 sont traités selon la technique de 17). On obtient 64 mg de produit brut qui cristallise dans le mélange acétone - hexane (2-8) :

F 239° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 18^\circ$ (C : 0,44).

analyse : $C_{21}H_{30}O_4$ Calc. % C 72,80 H 8,73

Tr. 72,65 8,79

Spectre de masse : Pics à m/e 346 (M^+)

m/e 328 $\left[M-18 (H_2O) \right]$

Spectre infrarouge : 3.520 cm^{-1} (-OH) ;

1.750 cm^{-1} (γ -lactone) ;

1.690 cm^{-1} (cétone).

b) Par oxydation de 22 (50)

A 223 mg du dérivé 22 en solution dans 5 cm^3 de chlorure de méthylène on ajoute 8 gouttes de pyridine, 8 gouttes d'eau oxygénée à 30% et 250 mg de N-bromoacétamide. Après 18 heures d'agitation à la température ordinaire, on verse dans le milieu réactionnel une solution de 150 mg d'hydrosulfite

de sodium dans 2 cm³ d'eau. Après extraction du milieu réactionnel selon la technique habituelle, on obtient 215 mg de produit brut qui est purifié par chromatographie préparative sur couche mince de silice. On isole 150 mg du produit 23 pur.

19) DIMETHYLAMINO - 3 β CETO - 11 OIQUE - 18 HYDROXY - 20S
LACTONE (→ 20) PREGNANE - 5 α 24

100 mg de dérivé 18 sont oxydés selon la technique de 5)b). On obtient 106 mg de produit brut qui cristallise dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

F 215° ; $[\alpha]_D^{20} - 2^\circ$ (C : 0,71).

analyse : C₂₃H₃₅O₃N Calc. % C 73,95 H 9,45 N 3,75
 Tr. 74,12 9,59 3,57

Spectre de masse : Pics à m/e 373 (M⁺)

m/e 110

m/e 84 (pic de base)

Spectre infrarouge : 1.705 cm⁻¹ (cétone).

20) DIMETHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 11 β , 20S OIQUE - 18
LACTONE (→ 11) PREGNANE - 5 α 25

a) Par réduction au borohydrure de sodium de 24

A une solution de 53 mg de la cétone 24 dans 10 cm³ d'éthanol contenant 1 goutte de lessive de soude, on ajoute

50 mg de borohydrure de sodium. On porte à reflux 8 heures. On ajoute, à nouveau, 50 mg de borohydrure de sodium à la 4ème heure. Après dilution du milieu réactionnel par de l'eau distillée, on extrait par du chloroforme. Après cristallisation du produit brut dans l'acétone on obtient des cristaux :

$$F \ 215^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} + 62^{\circ} \quad (C : 0,70)$$

analyse : $C_{23}H_{37}O_3N$ Calc. % C 73,56 H 9,93 N 3,73
Tr. 73,41 9,90 3,52

Spectre de masse : Pics à m/e 375 (M^+)

m/e 110

m/e 84 (pic de base)

b) Par solvolysse du tosylate 26

100 mg du tosylate 26 sont dissous dans 10 cm³ d'éthanol contenant 100 mg de carbonate de sodium préalablement dissous dans 1 cm³ d'eau. Le mélange est porté à reflux sous atmosphère d'azote pendant 6 heures. Après dilution par de l'eau distillée, le milieu réactionnel est extrait par du chloroforme. Le produit de la réaction cristallise dans l'acétone et est identique à celui obtenu en a).

21) DIMETHYLAMINO - 3 β O - TOSYL - 11 α OIQUE - 18 HYDROXY
- 20S LACTONE (→ 20) PREGNANE - 5 α 26

A 100 mg du dérivé 18 en solution dans 10 cm³ de pyridine, on ajoute 200 mg de chlorure de tosyle. Après un repos de 48 heures à la température ordinaire, le mélange réactionnel est dilué par de l'eau alcalinisée par du bicarbonate de sodium est extrait par du chloroforme. Le produit de la réaction cristallise dans l'acétone :

$$F \ 190^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 60^{\circ} \quad (C : 0,30).$$

$$\text{analyse : } C_{30}H_{43}O_5NS \quad \text{Calc. \% } C \ 68,05 \quad H \ 8,13 \quad N \ 2,6$$

Tr.	67,56	8,19	2,5
-----	-------	------	-----

22) DIMETHYLAMINO - 3 β OXYDO - 11 β , 18 HYDROXY - 20S
PREGNANE - 5 α 27

A une solution de 30 mg du tosylate 26 dans 4 cm³ de tétrahydrofurane on ajoute 30 mg de Li Al H₄. La solution est portée à reflux pendant 3 heures. Après destruction de l'excès de réactif, le milieu réactionnel est dilué par de l'eau alcalinisée par de la lessive de soude et extrait par du chloroforme. Le produit brut de la réaction est cristallisé dans l'acétone :

$$F \ 204^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} - 43^{\circ} \quad (C : 0,23).$$

analyse : $C_{23}H_{39}O_2N$ Calc. % C 76,40 H 10,87 N 3,87
 Tr. 76,19 10,78 3,92

Spectre de masse : Pics à m/e 361

m/e 110

m/e 84 (pic de base)

Spectre infrarouge : 3.130 cm^{-1} (-OH).

23) DIMETHYLAMINO - 3 β HYDROXY - 11 β OIQUE - 18

LACTONE (→11) CETO -20 PREGNANE - 5a 28

88 mg du dérivé 25 sont traités selon la technique de 5)b). On obtient 87 mg du produit qui cristallise dans l'acétone :

F 154° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} = 24^\circ$ (c: 0,25).

analyse : $C_{23}H_{35}O_3N$ Calc. % C 73,95 H 9,45 N 3,75
 Tr. 74,23 9,50 3,58

Spectre de masse : Pics à m/e 373

m/e 110

m/e 84 (pic de base)

Spectre infrarouge : 1.700 cm^{-1} (cétone).

24) OXYDATION DE 1, 2, 4 ET 29 PAR L'ANHYDRIDE SELENIEUX

L'amino-stéroïde est ajouté à une solution de 1,5 fois son poids d'anhydride sélénieux dans l'eau. On porte à reflux sous azote pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est alcalinisé par de l'ammoniaque et extrait par du chloroforme. Le produit brut est chromatographié sur colonne d'alumine standardisée (activité II - III) : F, $\left[\alpha \right]_D$ et analyses des produits obtenus sont décrits dans le Tableau 13.

DERIVES OBTENUS

DERIVES OBTENUS	Rdt %	Constantes : point de fusion (Solvant de crist.) $[\alpha]_D^{20}$ (C: ca 0,5%)	Formule brute Spectrométrie de masse	Calc. %			Tr. %		
				C	H	N	C	H	N
éthylamino-3 β dihydroxy-4 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-5 30	65	F 193°(acétone) -52°(CHCl ₃)	C ₂₂ H ₃₃ O ₃ N (M ⁺ 359)	73,50	9,25	3,90	73,70	9,31	3,94
éthylamino-3 β trihydroxy-4 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-5 21	58	F 270°(acétone) -50°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₄ N (M ⁺ 389)	70,92	9,06	3,60	70,84	9,03	3,52
éthylamino-3 α dihydroxy-4 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-5 22	35	F 209°(acétone) -63°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₃ N (M ⁺ 373)	73,95	9,45	3,75	73,82	9,47	3,48
éthylamino-3 β dihydroxy-4 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-5 23	70	F 218°(acétone) -33°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₃ N (M ⁺ 373)	73,95	9,45	3,75	73,95	9,24	3,72
éthylamino-3 β dihydroxy-6 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-4 24	10	F 198°(acétone) -15°(CHCl ₃)	C ₂₂ H ₃₃ O ₃ N (M ⁺ 359)	73,50	9,25	3,90	73,60	9,30	3,80
éthylamino-3 β trihydroxy-6 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-4 25	8	F 252°(acétone) -18°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₄ N 1/2 H ₂ O (M ⁺ 389)	69,29	9,10		69,67	8,85	
éthylamino-3 α dihydroxy-6 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) régénère-4 26	40	F 171°(acétone) +57°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₃ N (M ⁺ 373)	73,95	9,45	3,75	74,20	9,51	3,47

Diméthylamino-3β dihydroxy-6β, 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-4 <u>27</u>	7	F 190°(acétone) 0°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₅ O ₃ N (M ⁺ 373)	73,95	9,45	3,75	73,67	9,46	3,7
Méthylamino-3β hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnadiène-4,6 <u>38</u>	15	F 168°(acétone) -75°(CHCl ₃)	C ₂₂ H ₃₁ O ₂ N (M ⁺ 341)	77,37	9,15	4,10	77,84	9,27	4,1
Diméthylamino-3β dihydroxy-16α, 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnadiène-4,6 <u>32</u>	18	F 260°(acétone) -75°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₃ O ₃ N (M ⁺ 371)	74,36	8,95	3,77	74,28	9,09	3,7
Diméthylamino-3α hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnadiène-4,6 <u>40</u>	25	F 133-135° (acétone-hexane) +82°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₃ O ₂ N (M ⁺ 355)	77,70	9,36	3,94	77,62	9,35	3,7
Diméthylamino-3β hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnadiène-4,6 <u>41</u>	15	F 176° (oxyde d'isopro- pyle) -90°(cyclohexane)	C ₂₃ H ₃₃ O ₂ N (M ⁺ 355)	77,70	9,36	3,94	77,42	9,43	3,9
Diméthylamino-3β dihydroxy-4β, 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5α <u>42</u>		F 196°(acétone) +10°(CHCl ₃)	C ₂₃ H ₃₇ O ₃ N (M ⁺ 375)	73,56	9,93	3,73	73,16	10,10	3,7
Diméthylamino-3β O-acétyl-6β hydroxy-20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-4 <u>42</u>		F 270° (méthanol-éther) +20°(CHCl ₃)	C ₂₅ H ₃₇ O ₄ N HCl, 2H ₂ O	61,52	8,67		61,92	8,36	
Méthylamino-3β dihydroxy-6β, 20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5β <u>44</u>			C ₂₂ H ₃₅ O ₃ N (M ⁺ 361)	73,09	9,76	3,87	73,15	9,70	3,81
Méthylamino-3β acétylamino-3β O-acétyl-6β hydroxy-20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnane-5β <u>45</u>		F 184° (acétone-hexane) -50°(CHCl ₃)	C ₂₆ H ₃₉ O ₅ N	70,08	8,82	3,14	70,12	8,50	3,02

25) DIMETHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 4 β , 20S OIQUE - 18
LACTONE (—→ 20) PREGNANE - 5 α 42

100 mg du dérivé 33 sont hydrogénés selon la technique de 13). On obtient 95 mg de produit brut qui cristallise dans l'acétone :

$$F \ 196^{\circ} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} + 10^{\circ} \quad (C : 0,50).$$

26) DIMETHYLAMINO - 3 β O - ACETYL - 6 β HYDROXY - 20S
OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20) PREGNENE -4 43

50 mg du dérivé 37 sont acétylés selon la technique de 4). On obtient 54 mg de produit brut qui est homogène en chromatographie sur couche mince de silice, mais ne cristallise pas dans les solvants usuels. Le chlorhydrate est obtenu cristallisé dans le méthanol - éther :

$$F \ 270^{\circ} \text{ (Kofler)} ; \quad \left[\alpha \right]_D^{20} + 20^{\circ} \quad (C : 0,50).$$

27) METHYLAMINO - 3 β DIHYDROXY - 6 β , 20S OIQUE - 18
LACTONE (—→ 20) PREGNANE - 5 β 44

100 mg du dérivé 34 en solution dans l'éthanol sont hydrogénés à pression et température ordinaire, en présence de 10 mg d'oxyde de platine ADAMS. Après filtration du catalyseur, le solvant est distillé sous pression réduite.

Le produit brut (100 mg) est constitué (chromatographie sur couche mince) par un dérivé majoritaire accompagné d'une impureté (vraisemblablement le dérivé prégnane-5 α) qui n'a pu être éliminée.

28) METHYLAMINO - 3 β ACETYLAMINO - 3 β O - ACETYL - 6 β
HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20) PREGNANE - 5 β
45

35 mg du produit 44 sont acétylés selon la technique de 4). On obtient 37 mg de produit brut qui, par chromatographie sur 1,85 g d'alumine (activité II - III), donne 23 mg du produit pur. Ce produit cristallise dans l'acétone :

F 184° C ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 50^\circ$ (c : 0,29).

29) CETO - 3 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20)
PREGNENE - 4 46

La préparation de 46 à partir de paravallarine 1 a été décrite par LE MEN (1). Ce dérivé a été aussi obtenu à partir des feuilles de Paravallaris microphylla (vide supra et (6)).

30) CETO - 3 DIHYDROXY - 16 α , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNENE - 4 47

La préparation de 47 à partir de paravallaridine 2 a été décrite par LE MEN et al. (46). Ce dérivé a été également obtenu à partir des feuilles de Paravallaris microphylla (6).

31) CETO - 3 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNADIENE - 4,6 48

Le composé 48 a été isolé des feuilles de Paravallaris microphylla (vide supra et (6)).

32) O - ACETYL - 3 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNADIENE - 3,5 49

400 mg du dérivé 46 sont traités selon la méthode de DAUBEN et EASTHAM (44). On obtient 420 mg de produit brut. Ce dérivé 49 a été directement soumis à une réduction par le borohydrure de sodium pour obtenir le produit 50.

33) DIHYDROXY - 3 β , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNENE - 5 50

Les 420 mg de dérivé 49 ont été traités par le borohydrure de sodium selon la technique de SYKES et al. (45).

On obtient 400 mg du produit brut qui sont chromatographiés, sur une colonne d'alumine (activité II - III). On obtient 249 mg de dérivé pur 50 qui cristallise dans l'acétone - hexane (8-2) :

F 167° (déc.) ; $[\alpha]_D^{20} - 33^\circ$ (C : 0,52).

analyse : $C_{21}H_{30}O_3$ Calc. % C 76,32 H 9,15

Tr. 76,40 9,15

Spectre de masse : Pics à m/e 330 (M^+)

m/e 312 $\left[M - 18 (H_2O) \right]$

Spectre infrarouge : 3.450 cm^{-1} (-OH) ;

1.745 cm^{-1} (γ -lactone).

34) DICETO - 3,6 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE ($\longrightarrow$ 20)
PREGNENE - 4 (Hémi-synthèse de la cétone CP_1) 51

A une solution de 120 mg du dérivé 50 dans l'acétone à 0° est ajouté 0,4 cm^3 de réactif de JONES (47) fraîchement préparé. Le milieu réactionnel est agité, en présence d'air pendant 3 minutes. La solution est ensuite diluée par une solution aqueuse d'acétate de sodium. Une extraction par du chloroforme fournit 72 mg du dérivé 51 qui cristallise dans l'acétone et présente les mêmes caractéristiques physiques (I.R, U.V., R.M.N., F, $[\alpha]_D^{20}$) que la cétone naturelle CP_1 .

35) TRIHYDROXY - 3 ξ , 6 ξ , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20)
PREGNANE - 5 ξ 52

A une solution de 150 mg de la cétone CP₁, 51 dans 10 cm³ de tétrahydrofuranne et 2 cm³ de méthanol, on ajoute, par petites portions, 150 mg de borohydrure de sodium à la température ordinaire. 2 heures après le début de l'addition le milieu réactionnel est dilué par de l'eau et extrait par du chloroforme. Le produit brut obtenu (150 mg) est traité directement pour obtenir 53.

36) DICETO - 3,6 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20)
PREGNANE - 5 α (Hémi-synthèse de la cétone CP₂) 53

Les 150 mg de produit 52 sont oxydés selon la technique de SNATZKE (39) décrite en 5)b). On obtient 120 mg de produit brut qui sont purifiés par plaque préparative sur couche mince de silice. Après élution de la fraction majoritaire par le mélange chloroforme - méthanol (1-1), on obtient 30 mg du produit 53 pur présentant les mêmes caractéristiques physiques (I.R., U.V., R.M.N., F., $\left[\alpha\right]_D^{20}$) que la cétone naturelle CP₂.

Le produit 53 et la cétone CP₂ sont inchangés par un traitement à reflux pendant 1/2 heure en solution dans la potasse méthanolique 0,2 N.

37) CETO - 3 O - ACETYL - 11 β HYDROXY - 20S OIQUE - 18
LACTONE (—→20) PREGNADIENE - 1,4 55

90 mg de la cétone CP₃ 54 sont acétylés selon la technique utilisée en 4). Le produit brut de la réaction (95 mg) cristallise dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

F 176° (Kofler) ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 18^\circ$ (méthanol, C : 0,22).

Spectre de masse : Pic à m/e 384 (M⁺)

Analyse : C₂₃H₂₈O₅ Calc. % C 71,85 H 7,34

Tr. 71,72 7,14

38) DICETO - 3,11 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→20)
PREGNADIENE - 1,4 56

45 mg de cétone CP₃ 54 sont oxydés selon la technique de SNATZKE (39) utilisée en 5)b). 41 mg de produit brut sont obtenus et cristallisés dans l'acétone - hexane (1-1) :

F 247° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} + 44^\circ$ (C : 0,37).

Analyse : C₂₁H₂₄O₄ Calc. % 74,09 H 7,11

Tr. 73,83 7,08

Spectre de masse : Pic à m/e 340 (M⁺).

39) TRIHIDROXY - 3 β , 11 β , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNENE - 4 57

A 20 mg de la cétone CP₃ 54, dissous dans 25 cm³ de méthanol et 0,5 cm³ de diméthylformamide, on ajoute, peu à peu, et sous agitation, 80 mg de borohydrure de potassium pendant 2 heures 1/2 à la température ordinaire. Le mélange réactionnel est dilué par de l'eau et extrait par du chloroforme. On obtient 15 mg du produit brut qui est traité directement selon la technique de SNATZKE utilisée en 5)b) pour obtenir le dérivé 21.

40) TRIHIDROXY - 3 β , 11 β , 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNANE - 5a 58

43 mg de cétone CP₃ 54 sont hydrogénés selon la technique de 13). Le produit brut obtenu est un mélange à partir duquel une chromatographie préparative sur couche mince de silice permet d'isoler 12 mg d'un dérivé pur non cristallisé qui sera oxydé pour obtenir 59.

41) DICETO - 3, 11 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20)
PREGNANE - 5a 59

a) Par oxydation de 23 selon SNATZKE (39)

17 mg du dérivé 23 sont oxydés selon la technique décrite en 5)b). On obtient 11 mg de produit brut qui

cristallisent dans le mélange acétone - hexane (1-1) :

$$F \quad 254^{\circ}C \text{ (Kofler)} \quad ; \quad [\alpha]_D^{20} \quad + 20^{\circ} \quad (C : 0,20).$$

Analyse : $C_{21}H_{28}O_4$ Calc. % C 73,22 H 8,19

Tr.	73,10	7,92
-----	-------	------

Spectre de masse : Pic à m/e 344 (M^+).

b) Par oxydation de 58 selon SNATZKE (39)

11 mg du dérivé 58 sont oxydés selon la technique utilisée en 5)b). On obtient 5 mg de produit brut qui cristallisent dans le mélange acétone - hexane (1-1) : F 254. Ce dérivé présente les mêmes caractéristiques spectrales (masse, infrarouge) que le produit obtenu en a).

42) CETO - 3 HYDROXY - 20S OIQUE - 18 LACTONE (→ 20)

PREGNADIENE - 1,4 60

500 mg de céto-3 désamino paravallarine 46 dissous dans 25 cm³ de dioxanne sont traités par 300 mg de dichloro-5,6 dicyano-2,3 dihydrobenzoquinone (D.D.Q.) en agitant et chauffant à reflux pendant 12 heures. Après refroidissement (1 nuit), les cristaux de dichloro-5,6 dicyano-2,3 dihydrobenzoquinone sont filtrés et rincés avec du dioxanne. La solution de dioxanne est jetée dans l'eau distillée et extrait par du benzène. La phase organique, après lavage et séchage, est chromatographiée sur une colonne d'alumine (activité II - III). L'élution, par du benzène, fournit 400 mg de produit brut qui cristallise dans l'acétate d'éthyle :

F 225° ; $\left[\alpha \right]_D^{20} + 26^\circ$ (C : 0,25).

Analyse : $C_{21}H_{26}O_3$ Calc. % C 77,27 H 8,03
Tr. 76,45 7,86

Spectre infrarouge (KBr) : 1.750 cm^{-1} (γ -lactone) ;
1.670 cm^{-1} $\left[\begin{array}{c} \\ \end{array} \right]$
1.600 cm^{-1} diénone
et 1.620 cm^{-1} $\left[\begin{array}{c} \\ \end{array} \right]$

43) CETO - 3 DIHYDROXY - 16 α , 20S OIQUE - 18 LACTONE ($\longrightarrow$ 20)
PREGNADIENE - 1,4 61

500 mg de céto -3 désaminoparavallaridine 47 sont traités selon la technique de 42). On obtient 300 mg de produit pur après cristallisation dans l'acétone - hexane (6-4) :

F 240°C ; $\left[\alpha \right]_D^{20} - 11^\circ$ (C : 0,27).

Analyse : $C_{21}H_{26}O_4$ Calc. % C 73,66 H 7,66
Tr. 73,54 7,69

Spectre infrarouge : 3.400 cm^{-1} (-OH) ;
1.750 cm^{-1} (γ -lactone) ;
1.670 cm^{-1} $\left[\begin{array}{c} \\ \end{array} \right]$
1.600 cm^{-1} diénone
et 1.620 cm^{-1} $\left[\begin{array}{c} \\ \end{array} \right]$

44) CETO - 3 DIHYDROXY - 11c, 20S OIQUE - 18 LACTONE (—→ 20

PREGNADIENE - 1,4 62

Une solution de 50 mg de la cétone 23 et de 100 mg de D.D.Q. dans 10 cm³ de dioxanne est portée à reflux pendant 22 heures. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé à sec et le résidu repris par du chloroforme. Les phases organiques sont lavées par une solution aqueuse de carbonate de sodium puis par de l'eau distillée. Après séchage et distillation du solvant, on obtient 38 mg de produit brut dont une chromatographie sur couche mince de silice révèle la présence du produit de départ 23 accompagné de trois dérivés majoritaires.

Deux chromatographies préparatives successives sur couche mince de silice permettent d'isoler 2 mg d'un dérivé pur dont le spectre de masse est qualitativement identique à celui de la cétone CP₃ 54. Ce résultat permet de lui attribuer la structure 62. Le dérivé 62 a un Rf différent du dérivé 54 en chromatographie sur couche mince de silice (plaques neutres ; éluant CHCl₃ - MeOH 95-5).

C O N C L U S I O N

Au cours de ce travail, quatre nouveaux alcaloïdes et trois nouveaux dérivés cétoniques ont été isolés des feuilles de Paravallaris microphylla Pitard (Apocynacées). Leurs structures ont été établies sur la base de leurs propriétés chimiques et spectrales. Deux alcaloïdes ont été identifiés à des dérivés isolés du Kibatalia gitingensis Woodson (Apocynacées). Tous ces dérivés appartiennent à la série hydroxy - 20S oïque - 18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnane - 5 α ou prégnène - 5 :

Alcaloïde AP₁ ou diméthylamino-3 α hydroxy-20S oïque-18
lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 (2b).

AP₂ ou diméthylamino-3 β hydroxy-20S oïque-18
lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 (5).

AP₃ ou méthylamino-3 β dihydroxy-7 α , 20S oïque-18
lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-5.

AP₄ ou méthylamino-3 β dihydroxy-7 β , 20S oïque-18
lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-5.

	AP ₅	ou méthylamino-3 β dihydroxy-11 α , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène -5.
	AP ₆	ou méthylamino-3 β dihydroxy-11 α , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnane-5 α .
Cétone	CP ₁	ou dicéto-3,6 hydroxy-20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnène-4.
	CP ₂	ou dicéto-3,6 hydroxy-20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnane-5 α .
	CP ₃	ou céto-3 dihydroxy-11 β , 20S oïque-18 lactone ($\longrightarrow$ 20) prégnadiène-1,4.

La présence de dérivés oxygénés en C₍₁₁₎, C₍₁₈₎ et C₍₂₀₎ dans cette plante est à souligner car ils permettent d'accéder à des composés physiologiquement actifs et, en particulier, à l'aldostérone.

L'hémisynthèse d'alcaloïdes et de dérivés cétoniques qui pouvaient, théoriquement, se trouver dans la plante a été réalisée dans le but d'identifier des produits naturels présents en très faible quantité.

L'action de l'anhydride sélénieux dans les séries amino-3 α ou 3 β hydroxy -20S oïque-18 lactone($\longrightarrow$ 20) prégnène-5 a permis de préparer les dérivés hydroxylés en C₍₄₎ et C₍₆₎.

Trois dérivés diénoniques 1,4 ont également été préparés dans la même série.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 J. LE MEN
Bull. Soc. Chim. 1960, 860.
- 2 a) J. LE MEN, C. KAN et R. BEUGELMANS
Ibid. 1963, 597.

b) A. CAVE, P. POTIER, A. CAVE et J. LE MEN
Ibid. 1964, 2415.
- 3 a) R. BEUGELMANS, H.P. HUSSON et J. LE MEN
Ibid. 1964, 136.

b) R. BEUGELMANS, H.P. HUSSON, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1964, 141.

c) H.P. HUSSON, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1965, 1721.

d) H.P. HUSSON, R. BEUGELMANS, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1965, 1930.

e) H.P. HUSSON, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1966, 948.

f) H.P. HUSSON, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1966, 2256.

- g) H.P. HUSSON, R. BEUGELMANS, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1966, 2516.
- h) H.P. HUSSON, J. de ROSTOLAN, P. POTIER et J. LE MEN
Ibid. 1966, 3379.
- i) A. CAVE, C. KAN-FAN, P. POTIER et J. LE MEN
Tetrahedron 1967, 23, 4681.
- j) H.P. HUSSON, J. de ROSTOLAN, Y. PEPIN, P. POTIER
et J. LE MEN
Tetrahedron 1969, sous presse.
- 4 M. PICHON
Mém. Mus. Hist. Nat. Paris, 1948, 24, 111.
- 5 A. CAVE
Thèse Doctorat ès-Sciences, Paris, 1968.
- 6 P. POTIER, C. KAN et J. LE MEN
Tetrahedron Letters 1964, 1671.
- 7 G.A. SANTOS
Philippine J. Sci. 1965, 94, (2), 217.
- 8 R.S. CAHN, C.K. INGOLD et V. PRELOG
Experientia 1956, 12, 81.
- 9 W. VETTER, P. LONGEVIALLE, F. KHUONG-HUU-LAINE,
Q. KHUONG-HUU et R. GOUTAREL
Bull. Soc. Chim. 1963, 1324.

- 10 Z. PELAH, M.A. KIELCZEWSKI, J.M. WILSON, M. OHASHI,
H. BUDZIKIEWICZ et C. DJERASSI
J. Am. Chem. Soc. 1963, 85, 2470.
- 11 R.W. HOROBIN, J. Mc KENNA et J.M. Mc KENNA
Tetrahedron supp. N° 7 1966, 35.
- 12 J.C. GRAMAIN, H.P. HUSSON, P. POTIER
Bull. Soc. Chim. 1969, 3585.
- 13 L. DORFMAN
Chem. Rev. 1953, 47, 53.
- 14 H.B. KAGAN et J. JACQUES
Bull. Soc. Chim. 1960, 1551.
- 15 W. KLYNE
Determination of Organic Structures by Physical
Methodes - Academic Press Inc., New-York, 1955,
Vol. 1, p. 73.
- 16 J.P. MATHIEU et A. PETIT
Constantes sélectionnées, pouvoir rotatif naturel
I Stéroïdes, Masson et Cie, Paris, 1956.
- 17 L.M. JACKMAN
Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy,
Pergamon Press, New-York, 1959, p. 116.
- 18 W. ESCHWEILER
Chem. Ber. 1905, 38, 880.
- 19 N.S. BHACCA et D.H. WILLIAMS
Applications of N.M.R. Spectroscopy in Organic
Chemistry, Holden-Day Inc. 1964, p. 83.

- 20 K. HEUSLER, P. WIELAND et A. WETTSTEIN
Helv. Chim. Acta 1961, 170, 1374.
- 21 K. HEUSLER, J. KALVODA, Ch. MEYSTRE, P. WIELAND,
G. ANNER, A. WETTSTEIN, G. GAINELLI, D. ARIGONI,
et O. JEGER
Experientia 1960, 16, 21.
- 22 M.M. JANOT, X. LUSINCHI et R. GOUTAREL
Bull. Soc. Chim. 1964, 1566.
- 23 T. KIKUCHI, S. UYEO, M. ANDO et A. YAMAMOTO
Tetrahedron Letters 1967, 1817.
- 24 O. ROSENHEIM et W.W. STARLING
J. Chem. Soc. 1937, 377.
- 25 A. BERTHO
Liebigs Ann. 1947, 557, 220.
- 26 R. GOUTAREL, C. CONREUR et J. PARELLO
Bull. Soc. Chim. 1963, 2401.
- 27 A. BERTHO et M. GOTZ
Liebigs Ann. 1958, 619, 96.
- 28 R. GOUTAREL
Les alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées,
Herman, Paris, 1964.
- 29 A. BERTHO
Angew. Chem., Abt. A, 1947, 59, 4973.
- 30 R.D. HAWORTH et M. MICHAEL
J. Chem. Soc. 1957, 4973.

- 31 N.S. BHACCA et D.H. WILLIAMS
Applications of N.M.R. spectroscopy in Organic
Chemistry, Holden-Day Inc. 1964, p. 77.
- 32 Y. WATANABE, Y. MIZUHARA et M. SHIOTO
J. Org. Chem. 1966, 31, 3785.
- 33 S. NISHIMURA et K. MORI
Bull. Soc. Japan 1963, 36, 318.
- 34 L. FIESER et M. FIESER
Steroids, Reinhold Publishing Corporation
New-York, 1959.
- 35 A.I. SCOTT,
Interpretation of the Ultraviolet spectra of
Natural Products, Pergamon press, 1964, p. 67.
- 36 L. FIESER,
J. Am. Chem. Soc. 1953, 75, 4386.
- 37 A. CAVE et M. LEBOEUF
Communication personnelle.
- 38 H. BUDZIKIEWICZ et C. DJERASSI
J. Am. Chem. Soc. 1962, 84, 1430.
- 39 G. SNATZKE
Chem. Ber. 1961, 94, 729.
- 40 M.M. JANOT, P. DEVISSAGUET, Q. KIUONG-HUU et R. GOUTAREL
Ann. Pharm. fr. 1967, 25, N° 11, 733.

- 41 D.H. WILLIAMS, N.S. BHACCA et C. DJERASSI
J. Am. Chem. Soc. 1963, 85, 2810.
- 42 K. TORI et E. KONDO
Steroids 1964, 4, 713.
- 43 L.F. FIESER et M. FIESER
Reagents for Organic Synthesis,
John Wiley and sons Inc., 1967, p. 1059.
- 44 W.G. DAUBEN et J.F. EASTHAM
J. Am. Chem. Soc. 1951, 73, 3260.
- 45 R.W. KELLY, I. Mc CLENAGHAN et P.J. SYKES
J. Chem. Soc. 1967, 2375.
- 46 R. BEUGELMANS, C. KAN et J. LE MEN
Bull. Soc. Chim. 1963, 1306.
- 47 C. DJERASSI, R.R. ENGLE et A. BOWERS
J. Org. Chem. 1956, 21, 1547.
- 48 G. MULLER, J. MARTEL et CHANH HUYNH
Bull. Soc. Chim. 1961, 28, 2000.
- 49 H. RUSCHIG, W. FRITOH, J. SCHMIDT-THOME et W. HOEDE
Chem. Ber. 1955, 88, 883.
- 50 C. MEYSTRE, K. HEUSLER, J. KALVODA, P. WIELAND,
G. ANNER et A. WETTSTEIN
Helv. Chim. Acta 1962, 45, 1317.

- 51 R.F. ZURCHER
Helv. Chim. Acta 1963, 46, 2054.
- 52 D. BURN, D.N. KIRK et V. PETROW
Proc. Chem. Soc. 1960, 14.
- 53 R. TSCHESCHE, I. MORNER, G. SNATZKE
Ann., 1963, 670, 103.
- 54 M. LEBOEUF, A. CAVE, R. GOUTAREL
C.R. Acad. Sci., 1964, 259, 3401.
- 55 R.D. BENNETT, E. HEFTMANN
Phytochemistry, 1965, 4, 873.
- 56 R.D. BENNET, E. HEFTMANN, SHUI-TZE KO
Phytochemistry, 1966, 5, 517.
- 57 J-P DEVISSAGUET
Thèse Doctorat ès-Sciences, Paris, 1967.

